

Aus dem Landesveterinäruntersuchungsamt Berlin

Direktor: Professor Dr. E. Hellmann

Über das Vorkommen von atypischen Mykobakterien in Viehtränken

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung des Grades eines

Doktors der Veterinärmedizin

an der

Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Hans Gerle

Tierarzt aus Hof/Sudetenland

Berlin 1972

Journal-Nr. 790

Aus dem Landesveterinäruntersuchungsamt Berlin

Direktor: Professor Dr. E. Hellmann

Über das Vorkommen von atypischen Mykobakterien in Viehtränken

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung des Grades eines

Doktors der Veterinärmedizin

an der

Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Hans Gerle

Tierarzt aus Hof/Sudetenland

Berlin 1972

Journal-Nr. 790

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereiches
Veterinärmedizin der Freien Universität
Berlin

Vorsitzender: Prof. Dr. H.-J. Sinell

Referent: Prof. Dr. E. Hellmann

Koreferent: Prof. Dr. H. Hartwig



Tag der Promotion: 12. Juli 1972

Inhaltsverzeichnis

	Seite
I. Einleitung	1
II. Schrifttum	
A) Vorkommen von atypischen Mykobakterien bei den landwirtschaftlichen Nutztieren und in ihrer Umgebung	2
B) Fleischhygienische und klinische Bedeutung der atypischen Mykobakterien	5
C) Atypische Mykobakterien und parallergische Tuberkulinreaktion	8
III. Eigene Untersuchungen	12
A) Untersuchungsmaterial	12
B) Methodik	13
C) Untersuchungsergebnisse	17
IV. Besprechung der Ergebnisse	39
V. Zusammenfassung	45
VI. Literaturverzeichnis	48



Digitized by the Internet Archive
in 2026

I. Einleitung

Seit der Tilgung der Rindertuberkulose verursachen das *M. avium* und in geringerem Maße auch die atypischen Mykobakterien bei der Kontrolle der Tuberkulosefreiheit der Rinder durch parallergische Sensibilisierungen differentialdiagnostische Probleme. Weiterhin werden diese Keime als Erreger tuberkuloseähnlicher Krankheitsprozesse (Mykobakteriosen) festgestellt. Im Bereich der Veterinärmedizin trifft dies insbesondere für die bei Schlachtschweinen auftretenden isolierten tuberkuloseähnlichen Lymphknotenveränderungen im Verdauungstrakt zu. Die wirtschaftlichen Folgen durch unnötige Ausmerzungen von Tuberkulinreagenten und durch Maßregelung von Schlachttieren sind erheblich.

Zwangsläufig stellt sich daher die Frage nach der Herkunft und Ökologie des *Mycobacterium avium* und der atypischen Mykobakterien. Zu ihrer Beantwortung sind in früheren Jahren angestellte Untersuchungen nur begrenzt brauchbar. Einmal weil diese Untersuchungen unter anderen Gesichtspunkten vorgenommen wurden. Zum anderen ist im letzten Jahrzehnt eine wesentliche Verfeinerung der mykobakteriellen Systematik erreicht worden. Daher sind in jüngster Zeit eine Reihe von Untersuchungen über die natürlichen Standorte der Mykobakterien durchgeführt worden. Sie vermitteln einen Einblick über die im Boden, in der Einstreu und in manchen Futterarten vorkommenden Mykobakterienspecies. Auch die Faeces der Haustiere sind verschiedentlich untersucht worden. Bezüglich des Tränkwassers und der Tränken liegen dagegen nur kasuistische Beobachtungen vor.

Es war meine Aufgabe, das Vorkommen von Mykobakterien in Viehtränken systematisch zu untersuchen.

II. Schrifttum

A) Vorkommen von atypischen Mykobakterien bei den landwirtschaftlichen Nutztieren und in ihrer Umgebung

Die Bezeichnung "atypische Mykobakterien", die ursprünglich auf aus tuberkulösen Prozessen isolierte nicht klassifizierte Mykobakterien angewandt wurde, wird heute nicht einheitlich gebraucht.

Viele Autoren bezeichnen alle Mykobakterienarten mit Ausnahme der eigentlichen Tuberkuloseerreger, *M. tuberculosis* und *M. bovis*, als atypisch. Andere Untersucher unterscheiden dagegen neben den echten Tuberkuloseerregern langsamwachsende atypische und schnellwachsende saprophytäre Mykobakterien (Systematik nach MEISSNER und SCHMIEDEL (51a)), ohne dabei die pathogene Bedeutung der einzelnen Arten zu berücksichtigen. Nach KAZDA (42) gelten in der Veterinärmedizin als atypisch solche Mykobakterien, die bei den Haustieren Tuberkulinerempfindlichkeit oder Mykobakteriosen hervorrufen können, bei denen es sich aber nicht um *M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. avium* oder *M. paratuberculosis* handelt.

Im Rahmen dieser Arbeit sollen als atypisch alle Mykobakterien verstanden werden, mit Ausnahme der vier oben angeführten Arten, die bei Haustieren echte ("typische") Krankheitserreger sind.

Schon sehr bald nach Entdeckung der klassischen Erreger der Tuberkulose wurde über das Vorkommen apathogener säurefester Stäbchen berichtet. So fanden PETRI (60) und RABINOWITSCH (62) bereits 1897/98 tuberkelbakterienähnliche Stäbchen in Butterproben, "die sowohl kulturell als auch ihren pathogenen Eigenschaften nach bedeutend von den echten Tuberkuloseerregern abweichen".

1899 berichtete MOELLER (53), daß er bei der Untersuchung von Pflanzenstaub, Mist und Tümpeln tuberkelbakterienähnliche Mikroorganismen isolieren konnte. Auch im Rinderkot gelang der Nachweis von Mykobakterien schon früh (OLT 1897 (59); THIERINGER 1913 (82) u.a.).

EICHBAUM (19) berichtete 1933 ausführlich über das Vorkommen von säurefesten Stäbchen in Wasserhähnen und in den Mundstücken von Blasinstrumenten; er glaubte, daß ein spezifischer Metalleinfluß selektierend zugunsten der säurefesten Saprophyten wirksam sei. Von LANGE (47), URABA (85) und VAN DEINSE (17) liegen ähnliche Untersuchungsergebnisse vor.

HAAG (27) hat die Ökologie der apathogenen Mykobakterien 1927 ausführlicher bearbeitet und bei 90 Proben von Erde, Gräsern, Mist, Milch und Haut in 72 Fällen Mykobakterien nachgewiesen (*M. lacticola*, *M. phlei*, *M. eos* und *M. luteum*).

In den letzten zwei Jahrzehnten ist die Systematik der Gattung *Mycobakterium* wesentlich ausgebaut worden, so daß neuere Mitteilungen zur Ökologie der Mykobakterien für die Klärung epizootologischer Fragen aufschlußreicher als frühere Arbeiten sind.

Von Rindern und aus ihrer Umgebung (Zitzenkanäle, Milch, Hautknoten, Tränken, Tümpeln, Weiden usw.) wurde eine Vielzahl von Mykobakterienstämmen isoliert, woraus BÖNICKE und JUHASZ (7, 8) die zwei neuen Arten *M. vaccae* und *M. diernhoferi* klassifizieren konnten.

KAZDA (41, 42) fand im Oberflächenwasser Mykobakterien, die er auch aus den Organen von mit diesem Wasser getränkten tuberkulinpositiven Hühnern anzüchten konnte und deren taxonomische Untersuchung zur neuen Species *M. brunense* führte. Nach SINGER und RODDA (78) befinden sich Mykobakterien nahezu regelmäßig frei im Wasser, an den Wänden von Wasserbehältern und an wasserbenetzten Holzteilen.

In einer umfangreichen Untersuchungsreihe hat BEERWERTH (3) aus dem Kot der Haustiere Mykobakterien gezüchtet. Er fand in 86 % der Rinder-, in 31 % der Schaf-, in 56 % der Pferde- und in 8 % der Schweinekotproben Mykobakterien, die zu 81 % der Gruppe II, zu 7,5 % der Gruppe III und zu 11 % der Gruppe IV des Schemas nach Runyon angehörten. BRÜHN (13) hat einen Teil dieser Stämme klassifiziert und folgende Arten im Rinderkot festgestellt: *M. phlei*, *M. vaccae*, *M. smegmatis*, *M. diernhoferi*, *M. fortuitum*, *M. thamnopheos*; bei einer großen Gruppe skotochromogener Stämme teilt er keine eindeutigen Differenzierungsergebnisse mit.

Im Hühnerkot fand SCHÜRMANN (71) in 28 % der Proben Mykobakterien: *M. avium* (in 1,3 % der Proben), Mykobakterien der Gruppen II und III, sowie nahezu alle Vertreter der Gruppe IV nach Runyon.

BEERWERTH und SCHÜRMANN (4) haben weiterhin die Bodenflora bezüglich ihres Mykobakteriengehaltes untersucht. In durchschnittlich 65 % der Bodenproben stellten sie Mykobakterien der Gruppen II, III und IV fest. Ferner fanden sie, daß im bodennahen Grünfutter wesentlich häufiger (in 30 % der Proben) als in Handelsfuttermitteln und Getreide (etwa 3,5 %) Mykobakterien vorhanden sind. Sie erklären damit das zahlreichere Auftreten dieser Keime im Kot von Weidetieren als im Kot von intensiv gehaltenen Schweinen und Hühnern. Das Spektrum der differenzierten Mykobakterienarten aus dem Boden deckt sich im wesentlichen mit dem im Kot gefundenen. Es kann daraus gefolgert werden, daß diese Keime in der Regel lediglich eine Darmpassage durchmachen. Interessant erscheint in diesem Zusammenhang eine Mitteilung von NASSAL und Mitarb. (57), denen aus 550 menschlichen Stuhlproben in keinem Fall die Isolierung mykobakterieller Keime gelang, obwohl auf zum menschlichen Genuß bestimmtem Gemüse Mykobakterien zu finden sind.

WOLINSKY und RYNEARSON (87) isolierten aus 86 % der Bodenproben Mykobakterien, u.a. in erheblichem Umfang *M. scrofulaceum* (aus etwa 5 % der Proben).

Für das Vorkommen von atypischen Mykobakterien in der Rohmilch ist nach den von HELLMANN (31) zusammenfassend wiedergegebenen Untersuchungsergebnissen einiger Autoren (u.a. CHAPMAN u. Mitarb. (16), JONES u. Mitarb. (36), UNERTL (84)) in erster Linie die Kontamination der Milch bei oder nach der Gewinnung verantwortlich. In geringem Maße muß jedoch auch eine Besiedlung der Zitzenschleimhaut mit Mykobakterien angenommen werden. So konnte BRAUER (11) in 3,1 % steril entnommener Einzelgemelkproben Mykobakterien der Gruppen II und IV nachweisen, während die oben genannten Autoren in 15 - 62 % der Proben aus roher Sammelmilch mykobakterielle Keime fanden.

B) Fleischhygienische und klinische Bedeutung der atypischen Mykobakterien

Durch die Beobachtung von BUHLER und POLLAK (14), die 1953 erstmals über zwei Fälle von durch atypische Mykobakterien verursachte Lungentuberkulose berichteten, erwachte weltweit das klinische Interesse an dieser Keimgruppe.

Im Bereich der Veterinärmedizin treten in neuerer Zeit immer häufiger Schwierigkeiten bei der fleischhygienischen Beurteilung von Schlachttieren mit Mykobakteriosen und bei der Abgrenzung parallergischer Reaktionen bei der Rindertuberkulose auf.

Aus isolierten tuberkuloseähnlichen Lymphknotenveränderungen werden - insbesondere beim Schwein - öfter atypische Mykobakterien allein oder zusammen mit *M. avium* gezüchtet. Darin liegt ein ernstes Problem, weil Schlachttiere mit derartigen Befunden als tuberkulös gemäßregelt werden müssen, wodurch erhebliche wirtschaftliche Verluste entstehen (GÖTZE (23)).

So wies BECKER (1) in Kehlgangslymphknoten von Schlachttieren - neben anderen nicht klassifizierten schnellwachsenden Myko-

bakterien - häufig *M. fortuitum* nach, und SCHLIESSER (66) stellte als Ursache tuberkuloseähnlicher Veränderungen in Kehlgangslymphknoten in 10 % der Fälle skotochromogene und in 20 % saprophytäre Mykobakterien (*M. fortuitum* und *M. phlei*) fest. Für das Auftreten isolierter Verkäsungen der Mesenteriallymphknoten beim Schwein, worüber erstmals KRENN (45) berichtete, waren nach WESTPHAL et al. (86) bei 6,8 % der Veränderungen atypische Mykobakterien verantwortlich. BRANDES (10) fand bei 0,5 - 0,7 % der Schlachtschweine tuberkuloseähnliche Veränderungen in den Mesenteriallymphknoten, als deren Ursache mehrfach chromogene Mykobakterien nachgewiesen wurden. Der Gruppe II nach Runyon angehörende Arten isolierten weiterhin GROSSKLAUS (26) und SIAM (77). SIAM fand auch - ebenso wie SCHLIESSER (66) und STOLL und SIAM (80) - *M. kansasii* und *M. phlei* bei Schlachttieren, allerdings nur zum Teil in krankhaften Veränderungen.

HELLMANN (30) sowie SEEGER und SCHACK-STEFFENHAGEN (74) teilen das Vorkommen von Mykobakterien der Gruppe III bei tuberkulösen Schlachtschweinen mit; letztere Autoren (75) konnten auch bei 4,5 % Schlachthühnern aus den Organen Mykobakterien, vorwiegend skotochromogene der Gruppe II, isolieren.

KAUKER und ZETTL (40) fanden im Sägemehl, das als Einstreu in einem Schweinebestand mit gehäuftem Auftreten von käsiger Lymphknotenentzündung verwendet wurde, atypische Mykobakterien der Gruppe III. Sie konnten nachweisen, daß die gefundenen Keime die Ursache für die Erkrankungen waren. Auch POPP (61) stellte im Sägemehl neben apathogenen Mykobakterien der Gruppen II, III und IV nach Runyon vereinzelt schweinepathogene Mykobakterien fest, deren eigentliche Herkunft und natürlicher Standort ungeklärt blieb.

Bei Rindern sind atypische Mykobakterien offensichtlich nur selten von schlachthygienischem Belang, wenngleich sie auch bei ihnen zu isolieren sind. So fand MOLL (54) in unveränderten Darmlymphknoten von 211 Schlachtrindern 4 Stämme skotochromogener Mykobakterien und einen Stamm *M. avium*.

Daneben sind auch klinische Aspekte im Zusammenhang mit atypischen Mykobakterien von Bedeutung. SCHAEFER (64) konnte in einer serologischen Studie zeigen, daß bei Mensch und Tier grundsätzlich die gleichen Mykobakterienserotypen als Krankheitserreger in Frage kommen. Er ermittelte bei aus Menschen und Tieren (Rindern, Schweinen und Vögeln) isolierten Mykobakterien insgesamt 18 Serotypen; 14 dieser Serotypen konnte er sowohl bei Menschen als auch bei Tieren finden.

Von STUART und HARVEY (81) liegt ein Bericht über Mastitiden vor, die durch *M. smegmatis* und andere schnellwachsende säurefeste Bakterien verursacht waren.

Die ätiologische Bedeutung skotochromogener Mykobakterien bei der Entstehung der Moosknötchen beim Rind wird diskutiert (DIERNHOFER, 18). Bei tuberkuloseverdächtigen Hunden ermittelte HUMMEL (34) erstaunlich oft *M. avium* und skotochromogene Stämme, die er aus Lungen und Körperhöhlenergüssen isolierte. Allerdings konnte im Einzelfalle nicht sicher geklärt werden, inwieweit diese Isolierungen als ätiologisches Agens für Erkrankungen zu werten sind.

SEEGER (73) hebt die Apathogenität der skotochromogenen Mykobakterien für Schweine, Hunde und Hühner hervor. Er stellt ferner das Nichtvorhandensein photochromogener Mykobakterien bei seinem großen Untersuchungsmaterial von Hühnern, Schweinen und Hunden fest.

Aus menschlichem Untersuchungsmaterial gezüchtete atypische Mykobakterien stellen ebenfalls oft nur Zufallsbefunde dar (KÄPPLER (39), REINHOLD (63)). So isolierten HUEMPFNER u. Mitarb. (33) zwar aus 179 Patienten 37 atypische Mykobakterienstämme, aber nur bei 5 Patienten waren diese Stämme nachweislich Krankheitserreger (4 mal *M. kansasii* und einmal ein nonchromogener Stamm).

SCHLIESSER (83, 89) kommt aufgrund von Literaturangaben und eigener Erfahrungen zu folgendem Resümee:

Atypische Mykobakterien sind in der Umgebung der Tiere häufig, über Isolierungen photochromogener Mykobakterien der Gruppe I liegen nur wenige Mitteilungen vor. Atypische Mykobakterien werden von Tieren häufig aufgenommen, Herdsetzungen sind jedoch selten und fast ausschließlich auf *M. avium*-Infektion des Geflügels beschränkt. Kontaktfäkke zwischen Tieren sind ebenso selten, zwischen Tier und Mensch bisher unbekannt.

C) Atypische Mykobakterien und parallergische Tuberkulinreaktion

Eine wesentliche Bedeutung in der Veterinärmedizin haben die atypischen Mykobakterien wegen ihrer Fähigkeit, die spezifische Tuberkulinreaktion im Rahmen der Kontrollen auf Tuberkulosefreiheit der Rinder zu stören.

Als parallergisch werden positive Tuberkulinreaktionen auf Säugertuberkulin bezeichnet, wenn sie durch andere Mykobakterien als durch die Erreger der Rindertuberkulose hervorgerufen werden.

Nach SCHLIESSER (68) liegt nur bei 10 - 20 % der Rinder mit Hautreaktionen auf Rindertuberkulin tatsächlich eine Tuberkulose im Sinne des Bekämpfungsverfahrens, d.h. eine *M. bovis*-Infektion vor. Bei den anderen Reagenten handelt es sich vorwiegend um Parallergien durch atypische Mykobakterien, vor allem durch *M. avium*. In geringerem Maße spielen in diesem Zusammenhang aber auch atypische Mykobakterien eine Rolle. So fanden MAI und RICHTER (48) bei 82 Rindern mit tuberkulösen Veränderungen in den Darmlymphknoten und fraglicher Tuberkulinreaktion zweimal *M. bovis*, 22 mal *M. avium*, 4 mal atypische Angehörige der Gruppe III und 3 mal Mykobakterien der Gruppe IV nach Runyon.

Parallergische Reaktionen treten auf, weil alle zur Gattung *Mycobacterium* gehörenden Arten gemeinsame Antigene besitzen.

Die Zahl der Antigenfaktoren ist nicht bei allen Mykobakterienspecies gleich. Während die echten Tuberkuloseerreger 8 - 10 Antigenfaktoren besitzen, haben die atypischen Mykobakterien nur 4 - 6 (STÖCKL und MATHOIS (79) und TUBOLY (83)). Mindestens ein Antigen ist allen Mykobakterien gemeinsam; nach JENSEN u. Mitarb. (35) ist es bei den saprophytären Mykobakterienarten nur schwach ausgebildet, sie besitzen aber ein eigenes Gruppenantigen. Letztgenannte Autoren konnten auch feststellen, daß *M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. balnei* und *M. kansasii* bezüglich ihrer Antigenität eng verwandt sind.

Die antigene Fähigkeit der atypischen Mykobakterien, tierische Makroorganismen gegen Rindertuberkulin und gegen Homosensitine zu sensibilisieren, ist in neuerer Zeit wiederholt geprüft worden. Vorwiegend wurden diese Untersuchungen am Meerschweinchen, in geringerem Maße aber auch an Rindern und Kälbern durchgeführt.

In einer zusammenfassenden Darstellung stellt CHAPMAN (15) u.a. fest, daß die atypischen Mykobakterien - vielleicht mit Ausnahme des *M. kansasii* - freilebende Organismen sein müssen, die bei Säugetieren als Komensalen zu finden sind und offensichtlich - so wurde an einer Rinderherde ermittelt - zu kurzfristig wechselnden Sensibilisierungen gegen verschiedene mykobakterielle Sensitine führen.

Hier interessiert nur der Einfluß von Kreuzreaktionen auf die Reaktion mit Säuger- und Geflügeltuberkulin.

Einige diesbezügliche in neuerer Zeit erhobene Befunde sind in Tabelle 1 zusammengestellt.

Es ist zu ersehen, daß längst nicht alle zum gegenwärtigen Zeitpunkt als klassifiziert geltenden atypischen Mykobakterienspecies im Tierversuch auf ihre Fähigkeit, unspezifische Reaktionen auf Tuberkuline zu erzeugen, geprüft sind.

Tabelle 1: Untersuchungsergebnisse einiger Autoren über parallelergische Reaktionen nach experimenteller Verabreichung von atypischen Mykobakterien

Geprüfte Mykobakterienart oder -gruppe	Tierart	Verabreichungsart	Säuger-Reaktion auf Tuberkulin	Autoren
Photochromogene Mykobakt.	Kälber	oral	+	FREERKSEN u. LAUTERBACH (21) SCHUHWEK (72)
Batthey-Stämme	Kälber	oral i. v.	+	"
Avium-ähnlich	Kälber	oral i. v.	zweifelh.	"
"	Kälber	oral	fraglich	"
"	Meersch.	i. m.	-	FREERKSEN u. LAUTERBACH (21) EL AHVAL (20)
M. aquae	Kälber	oral	+ / fraglich	FREERKSEN u. LAUTERBACH (21)
Skotochr. Myk.	Kälber	oral	- / fraglich	"
M. fortuitum	Kälber	oral	- / fraglich	"
"	Kälber	s. c.	+ / fraglich	SCHLIESSER (69)
M. minetti	Jungrind.	oral	von 42 Tieren: 8 +	"
M. phlei	Jungrind	oral	5 +	NYIREDY et al. (58)
"	Meersch.	oral	-	"
"	Rinder	oral	20%: fraglich	MÜLLER (55)
"	Kälber	s. c.	-	"
"	Kälber	s. c.	oral: -, s. c.: ?	SEELEMAN u. RACKOW (76)
M. lacticola	Kälber	oral	fraglich	"
"	Meersch.	oral	60%+, oral-	MÜLLER (55)
"	Rinder	oral	-	"
M. smegmatis	Jungrind.	oral	-	"
"	Rinder	oral	-	NYIREDY et al. (58)
M. brunense	Hühner	i. m.	+ / zweifelh.	HEESCHEN u. KRÜGER (29)
"	Rinder	i. c.	90% +	KAZDA (41a)
"	Kälber	oral	53% + + / zweifelh.	" (41b) " (41b)

In der Regel können unspezifische Tuberkulinreaktionen nur provoziert werden, wenn die Zufuhr der Antigene über längere Zeit erfolgt - zumindest bei oraler Verabreichung. Aus den Untersuchungsergebnissen nahezu aller in der Tabelle angeführten Autoren geht hervor, daß die erzeugte unspezifische Tuberkulinempfindlichkeit temporärer Natur ist, mit der Elimination der Keime aus dem Organismus wieder verschwindet (BEDERKE (2)) und daß die Reaktion auf Geflügeltuberkulin oft stärker ist als auf Säugertuberkulin. Nach den Ergebnissen SCHUHWERKS (72) können allerdings photochromogene Mykobakterien eine mehrere Monate lang anhaltende Sensibilisierung bewirken.

Grundsätzlich können alle geprüften Mykobakterienarten (s. Tab. 1) parallergische Tuberkulinreaktionen hervorrufen; die Arten *M. smegmatis* bzw. *M. lacticola* und *M. phlei* treten jedoch beim Rind in ihrer Bedeutung zurück. Zumal wenn man bedenkt, daß die meist kurzzeitigen Sensibilisierungen nur nach wiederholter Verabfolgung erheblicher mykobakterieller Keimmengen möglich waren (SEELEMANN u. RACKOW (76)). Es sei außerdem erwähnt, daß HEESCHEN und KRÜGER (29) ihre Befunde nur an zwei diesbezüglich geprüften Rindern erhoben.

Bemerkenswert ist fernerhin, daß auch skotochromogene Stämme als störender Faktor bei der Tuberkulinisierung der Rinder in Erscheinung treten können (FREERKSEN u. LAUTERBACH (21)).

Nach KAZDA (41, 42) kann dem zum Trinken aus stehenden Gewässern entnommenen Oberflächenwasser in diesem Zusammenhang einige Bedeutung zukommen, da es allergisierende Mykobakterien in hoher Konzentration enthalten kann, von denen Weidetiere dann entsprechend große Mengen aufnehmen.

III. Eigene Untersuchungen

A) Untersuchungsmaterial

Es handelt sich um Abstriche aus Tränken in Viehställen landwirtschaftlicher Betriebe aus verschiedenen Gegenden der Bundesrepublik.

Aus 21 Rinderstallungen, 3 Schweine- und 3 Geflügelställen wurden insgesamt 213 Tupferproben entnommen. Die Entnahme erfolgte in den Monaten April und Mai.

Tabelle 2: Herkunft der Proben

Jede Nummerngruppe umfaßt die Proben aus jeweils einem Bestand.

Proben-Nr.	Herkunft	Tierart	
1-20	Rinderklinik Berlin	Rinder	
21-26, 27-32, 33-38, 39-44, 78-81, 82-85, 86-92, 93-100	Bayer. Wald, 8 landwirtsch. Kleinbetriebe, insges. 47 Proben	Rinder u. Jungtiere	
45-52	Institut für Tierernährung, Berlin	Broiler	Tränken aus Plastik
53-56	"	Legehühner	Zulaufhähne aus Metall
57-58	"	"	Abflüsse aus Plastik
59-77	" aus Berlin ins- ges. 53 Proben	Schweine	
101-107, 108-121, 122-124, 125-134, 135-143	Eifel, 5 mittl. landwirt. Betriebe, insges. 43 Proben	Rinder	
144-151, 152-169, 170-180, 181-183, 184-186, 187-190, 191-204	Umgebung von Göttingen 7 mittl. landwirt. Betriebe, insges. 60 Proben	Rinder Schweine (181-183)	191-204 aus Vorzugs- milchbetrieb
205-209, 210-213	Nordbaden, 2 Mastbetriebe, insges. 9 Proben	Jungbullen	

Die Proben wurden mittels Wattetupfer von den Wasseraustrittsstellen in den automatischen Viehtränken gewonnen.

Die Tränken für Rinder bestehen aus einer meist emaillierten Auffangschüssel und einem über eine Druckzunge zu betätigenden Wasserhahn. Nur von der Wasseraustrittsstelle dieses ausnahmslos aus Messing bestehenden Hahnes wurden die Abstriche getätigt. Entsprechend wurde auch in Schweineställen vorgegangen, dort werden Nippeltränken aus Messing verwendet. Die Proben der Nummern 45 - 52 aus einem Broilerstall stammen dagegen von Nippeltränken aus Plastik.

Das Wasser wird in der Regel aus dem gemeindlichen Wassernetz bezogen; bei den Proben 21-26, 33-38, 82-85, 93-100 und 108-121 kommt das Tränkwasser aus betriebseigenen Quelfassungen.

Die Tupferproben wurden am Tage ihrer Entnahme oder spätestens am folgenden Tag zur Anreicherung gebracht.

B) Methodik

Durch Anreicherung wurde die Isolierung von Mykobakterien versucht und die Typendifferenzierung aufgrund der Wachstumsmerkmale in der Erst- und Subkultur bei verschiedenen hohen Brutungstemperaturen, des Wachstums auf einfachem Nähragar, des Verhaltens in der Amidreihe nach BÖNICKE und - bei einem Teil der isolierten Stämme - aufgrund der Verstoffwechselung bestimmter Kohlenhydrate durchgeführt.

1. Isolierung

In Anlehnung an KAZDA (41a) wurden die Tupferproben zunächst in 10 ml Glycerinwasser (2-%ig) suspendiert und 3 Tage bei 37°C inokuliert.

Zur Abtötung oder zumindest Reduzierung der Begleitkeime versetzten wir die Suspension nach der Bebrütung mit der gleichen Menge (10 ml) Schwefelsäure (6-%ig) und reicherten das Bakterienmaterial nach 10-minütigem Einwirken der Schwefelsäure durch Zentrifugieren (10 min. bei etwa 3 000 U/min.) an.

Das Sediment wurde anschließend sofort auf je zwei Röhrchen Petragani-Witte-Schrägnährböden mit Glycerin, die mittels Bartmannstopfen verschlossen waren, und auf ein Röhrchen des gleichen Nährbodens aber ohne Glycerin - Verschuß durch einfachen Gummistopfen - ausgestrichen. Die Vorbehandlungszeit dauerte 25 bis höchstens 30 Minuten. Die Bebrütung erfolgte bei 37°C; das Wachstum der Erstkultur wurde wöchentlich, im ganzen 8 Wochen lang, kontrolliert.

Anfänglich überimpften wir das Ausgangsmaterial ohne Vorbehandlung direkt auf die Nährböden. Nach wenigen Tagen zeigte sich jedoch, daß über die Hälfte der angesetzten Kulturversuche durch Verunreinigung mit schnellwachsenden Keimen völlig unbrauchbar zur Isolierung von Mykobakterien geworden waren. Auf die Vorbehandlung mit Schwefelsäure konnte deshalb nicht verzichtet werden, obwohl dadurch in erheblichem Maße neben den Begleitkeimen auch der eventuelle Gehalt an Mykobakterien reduziert werden kann.

2. Mikroskopische Beurteilung

Verdächtige Kolonien wurden mit der Färbemethode nach ZIEHL-NEELSEN gefärbt.

Nur eindeutig säurefeste Kolonien fanden bei der weiteren Differenzierung Berücksichtigung.

Der bei den einzelnen Mykobakterienspecies unterschiedliche Grad der Säurefestigkeit wurde zur Differenzierung nicht verwendet.

3. Einteilung aufgrund kulturelmorphologischer Merkmale

a) Prüfung des Wachstums und der Wachstumsgeschwindigkeit auf jeweils zwei Petragnani-Witte-Schrägnährböden ohne Glycerin und auf zwei gewöhnlichen Agarnährböden

1. bei Zimmertemperatur, die Bebrütung erfolgte bei einer durchschnittlichen Raumtemperatur von 22° für 4 Wochen;
2. bei 37° im Brutschrank für 6 Wochen;
3. bei 45° im Wasserbad für 4 Wochen, es kamen zwei Petragnani-Witte-Nährböden zur Anwendung. Bei zweifelhaftem Ergebnis wurde die Bebrütung bei 45° im Brutschrank wiederholt.

b) Prüfung der Farbstoffbildung bei Wachstum im Dunkeln, Bebrütung bei 37° für 3 Wochen.

c) Prüfung der Farbstoffbildung nach kurzzeitiger Belichtung der im Dunkeln gewachsenen Kulturen. Die Belichtung erfolgte für 2 - 3 Stunden durch Tageslicht.

4. Biochemische Differenzierungsmethoden

Es liegen die zusammenfassenden Darstellungen von BÖNICKE (6), JUHASZ u. BÖNICKE (37), MEISSNER (49, 50), SCHRÖDER u. Mitarb. (70) und GORDON und MIHM (24) zugrunde.

a) Amidaseproben nach BÖNICKE

Die Vorzucht der Stämme erfolgte etwa 2 Wochen lang auf Löwenstein-Jensen Nährböden.

Das Verfahren von BÖNICKE (9) wurde streng eingehalten. Entsprechend dem Vorgehen von JUHLIN (38) verzichteten wir jedoch auf das Waschen der Bakterienmasse in physiologischer

Kochsalzlösung und führten den Ammoniaknachweis nach 6 und 22 Stunden durch. Anfängliche Schwierigkeiten zeigten, daß es ratsam ist, den zur Herstellung der Hypochloritlösung benötigten Chlorkalk auf seinen Gehalt an wirksamem Chlor zu prüfen. Das ist mit dem im DAB 6 angegebenen Verfahren leicht möglich.

Alle isolierten Stämme testeten wir an folgenden Amiden: Acetamid, Benzamid, Harnstoff, Isonikotinamid, Nikotinamid, Pyrazinamid, Salicylamid, Succinamid und Allantoin. Die verwendeten Reagenzien wurden mit Nessler's Reagenz auf freies Ammoniak geprüft. Zur Beurteilung des Ammoniakgehalts der Proben wurde eine Vergleichsreihe mit 10 (+++), 5 (++), 3 (+) und 1 γ Ammoniak ((+)) pro ml Lösung herangezogen. Entsprechend des Probenansatzes kann maximal 14 γ Ammoniak pro ml Bakterien-Amid-Gemisch (bzw. 28 γ bei Diamiden) vorhanden sein.

b) Säurebildung aus Kohlenhydraten

Für einen Teil der schnellwachsenden Stämme kam dieser Test zur Anwendung.

Das anorganische Grundsubstrat hatte nach JUHASZ und BÖNICKE (37) folgende Zusammensetzung:

In 1 000 ml Aqua dest. lösen	
KH_2PO_4	0,5 g
K_2HPO_4	1,5 g
NH_4Cl	1,0 g
KCl	0,2 g
$\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0,2 g
Na_2SO_4 anhydr.	0,2 g
Agar	15,0 g
Bromkresolpurpurlösung (0,04 %ig) 15 ml	

Dem Grundsubstrat wurden die Kohlenhydrate (1 %ig) Rhamnose, Arabinose, Galaktose, Mannit, Sorbit, Inosit und Fruktose zu-

gesetzt. Die Beimpfung der Nährböden erfolgte mit jeweils einem Tropfen einer kräftig getrübten Bakteriensuspension in physiol. NaCl-Lösung.

Kontrolle des Farbumschlags nach 1, 2, 3 und 4 Wochen.

Bebrütung bei 32°. Beurteilung: - = kein Farbumschlag, (+) = nicht vollständiger Farbumschlag, + = vollständiger Farbumschlag.

C) Untersuchungsergebnisse

1. Isolierung und Nachweis

Es wurden insgesamt 213 Tupferproben untersucht. Von diesen fielen 32 (15 %) für die weitere Untersuchung aus; bei ihnen waren alle 3 beimpften Nährböden durch Begleitkeime stark verunreinigt. Es verblieben somit 181 Proben im weiteren Untersuchungsgang.

Die Verunreinigungsquote aller 639 mit Ausgangsmaterial beimpften Nährbodenröhrchen betrug 27 %.

Bei einem erheblichen Teil der Proben, nämlich bei 51 (24 %), war auf keinem der 3 angesetzten Nährböden irgendwelches Keimwachstum festzustellen. Es läßt sich nicht sagen, ob ein Teil dieser Proben von vornherein steril war oder ob in jedem Falle die Vorbehandlung mit Schwefelsäure die Abtötung aller Keime bewirkte, bzw. inwieweit die Hemmung des Petragnanin-Nährbodens hier eine Rolle spielt.

Von den verbleibenden 130 Proben zeigten 54 rein mykobakterielles Wachstum, 21 mykobakterielles und gleichzeitig mäßiges Wachstum von Begleitkeimen. Bei 55 Proben mit Keimwachstum ergaben sich keine Anhaltspunkte für das Vorhandensein mykobakterieller Kolonien.

Aus Tabelle 3 ist u.a. zu ersehen, daß aus 41,4 % der auswertbaren Proben Mykobakterien isoliert werden konnten.

Tabelle 3: Isolierungen aus dem Probenmaterial

	Anzahl	in %
Proben	213	100
Totalausfälle	<u>32</u>	<u>15</u>
auswertbare Proben	181	85
Proben mit mykobakt. Wachstum	75	41,4 der auswertb. Proben
Proben mit mykobakt. Wachstum u. gleichz. Wachstum von Begleitkeimen	21	11,6 "
isolierte Mykobakterienstämme	80	44,2 "
	==	====

In der nachfolgenden Tabelle 4 sind die Ergebnisse der Erstkultur zusammengestellt. Weiterhin in der Tabelle enthalten sind kurze bakterioskopische Beurteilungen von nach ZIEHL-NEELSEN gefärbten Kulturausstrichen. Alle aufgeführten Stämme waren überwiegend säurefest. Die Ausstriche stammen von der ersten oder zweiten Subkultur.

Tabelle 4: Ergebnisse der Erstkulturen

P+ = Petragani-Witte mit Glycerin k. = kurze
P- = Petragani-Witte ohne Glycerin l. = lange
m.P. = mit Pigment mitl. = mittellange

Proben-Nr.	Wachstum auf l.P+ 2.P+ P-	erstes sichtb. Wachstum, Tage	bakterioskop. Bild, Z-N Färbg.
2	+ - +	10	k. Stäb.
10	+ + -	24	mitl. fein Stäb.
10 m.P.	- + +	6	", manch. Keulenform
13	+ - -	38	k. feine Stäb.

Proben- Nr.	Wachstum auf 1.P+ 2.P+ P-			erstes sichtb. Wachstum, Tage	bakterioskop. Bild, Z-N Färbg.
14	-	+	-	40	mitl.feingran.Stäb.
16	-	-	+	6	k.Stäb,fädig ao.
18	+	+	-	10	k.kräft. Stäb.
22	+	+	-	11	k. Stäb.
25	+	-	-	23	
26	+	+	-	7	k.,oft gebog.Stäb.
27	-	+	-	28	mitl. Stäb.
30	+	+	+	10	mitl.,oft gebog. St.
31	+	+	+	19	"
34	+	+	+	23	k. b. mitl. Stäb.
36	-	+	-	11	"
38	-	+	-	18	k. kräft. Stäb.
41	+	+	-	20	"
42	+	-	-	35	"
44	+	+	+	20	"
45	+	+	+	22	mitl.schlanke Stäb.
46	+	+	+	15	", z.T. fädig ao.
48	+	+	-	15	", "
49	-	+	-	27	", netzartig ao.
50	+	+	-	27	", "
51	+	-	+	15	", auch k. u. l.
52	+	+	+	15	", "
53	+	-	-	24	k. kräft. Stäb.
59	+	+	+	15	mitl. feine Stäb.
60	+	+	+	25	", oft parallel ao.
61	+	+	-	25	k.,z.T.mittl.Stäb.
68	-	-	+	20	mitl. feine Stäb.
71	+	-	-	15	"
76	+	-	-	22	",z.T. fädig ao.
78	+	-	-	22	k.,z.T.mitl.Stäb.
78 m.P.	+	+	-	22	k.Stäb,z.T.kokkoid
79	-	-	+	36	k. kräft. Stäb.
79 m.P.	+	+	-	20	mitl. feine Stäb.
80	+	+	-	20	", oft Stränge
83	+	+	+	20	k. feine Stäb.
84	+	-	-	20	kokkoide Formen

Proben-Nr.	Wachstum auf			erstes sichtb. Wachstum, Tage	bakterioskop. Bild, Z-N Färbg.
	1.P+	2.P+	P-		
87	-	+	-	36	kokk.F.u.k.Stäb.
92	-	+	-	36	"
95	+	-	-	36	k. kräft. Stäb.
97	+	+	-	20	"
98	+	+	-	20	k.St.u.kokk.F.
99	+	+	-	20	k. kräft. Stäb.
100	+	+	+	13	"
100 m.P.	+	+	+	30	l. feine u. fädig-vern. Stäb.
102	+	-	-	16	k. kräft. Stäb.
112	+	+	-	16	"
115	+	-	-	20	k.u.mitl. Stäb.
116	+	-	-	32	k. kräft. Stäb.
117	-	+	-	25	"
135	+	+	+	38	
136	+	+	-	16	k. kräft. Stäb.
137	+	-	-	22	", manche mitl.
138	+	+	-	28	k. feine Stäb.
139	+	+	-	28	"
140	+	+	-	28	"
141	+	-	+	28	sehr k. kräft. St.
142	+	+	-	28	k.u.mitl. Stäb.
143	+	+	+	28	"
148	-	-	+	40	l. feine fädig-vern. Stäb.
149	-	+	-	35	k. Stäb., kokkoid
155	-	-	+	20	mitl. Stäb. u. fädige Netze
160	+	-	-	16	k. Stäb.
181	-	+	-	28	k.u.mitl. Stäb.
183	-	+	-	35	"
186	+	-	-	14	k. Stäb, kokkoid
187	+	+	-	14	"
187 m.P.	+	+	-	10	k.u.mitl. Stäb.
191	+	-	-	28	k. Stäb.
191 m.P.	+	+	-	35	mitl.u.feine Stäb.

Proben- Nr.	Wachstum auf			erstes sichtb. Wachstum, Tage	bakterioskop. Bild, Z-N Färbg.
	l.P+	2.P+	P-		
196	+	+	+	16	mitl.u.l.feine St.
197	+	+	+	11	"
206	+	-	-	6	k. Stäb., kokkoid
207	+	+	+	6	k. kräft. Stäb.
210	+	-	-	6	" u.mitl. Stäb.
212	+	-	-	12	k.Stäb. u. kokkoide
213	+	-	-	12	"

Von den 80 angegangenen Kulturen waren 55 nur auf Petragrani-Nährboden mit Glycerin, 5 nur auf dem Nährboden ohne Glycerin und 20 sowohl auf glycerinhaltigem als auch glycerinfreiem Nährboden gewachsen. Bei 6 der Erstkulturen waren pigmentierte und unpigmentierte mykobakterielle Kulturen gleichzeitig zu finden. Das erste sichtbare Wachstum in der Erstkultur trat zwischen 6 und 40 Tagen auf. Es ist für die Eingruppierung der Stämme nur insofern verwertbar, als die innerhalb von 6 - 10 Tagen gewachsenen Stämme wahrscheinlich zur Gruppe der schnellwachsenden Mykobakterien gehören, zu denen aber sicherlich auch Stämme zu zählen sein werden, die in der Erstkultur erst wesentlich später sichtbar wurden.

Das mikroskopische Bild der Keime hat nur im Einzelfall eine differentialdiagnostische Bedeutung. Es bestehen zwar gewisse morphologische Unterschiede, sie sind aber oft nur gering und überdies nicht konstant (MEISSNER u. SCHMIEDEL (51a)); deswegen werden Größe und Form der Stäbchen als Differenzierungskriterium nachfolgend nur in einzelnen Fällen angeführt.

Bei einer kleinen Anzahl in der Tabelle nicht aufgeführter Erstkulturen konnten aus verdächtigen Kolonien vereinzelte säurefeste Stäbchen mikroskopisch festgestellt werden. Weitere Kulturversuche führten jedoch zu keiner Trennung von den Begleitkeimen bzw. blieben die Subkulturen nach erneuter Schwefelsäurebehandlung des Erstkulturmateri als steril.

2. Differenzierung der isolierten Mykobakterien

2.1 Nach kulturellen Eigenschaften

Zur Untersuchung wurden zweite bis vierte Subkulturen herangezogen. Die Ergebnisse sind in Tabelle 5 wiedergegeben. Die Stammmnummern entsprechen den Nummern der Proben.

Tabelle 5: Kulturelle Eigenschaften der isol. Mykobakterienstämme

(+) = kaum Wachstum
 + = Wachstum
 ++5 = starkes Wachstum, sichtbar nach 5 Tagen
 Ekol. = Einzelkolonien

Stamm-Nr.	Wachstum auf Petrag. N.			Nährag.		Pigmentierung im nach		Kulturbeschreibung
	22°	37°	45°	22°	37°	Dunkeln	Beli.	
2	++5	++3	-	++3	++5	gelb	glb.-oran.	trock.krüm. Ra. mit Ekol.
10	+6	++7	-	(+)	(+)	creme-hellgelb	=	trock.flach. Ra. mit Ekol.
10 m.P.	++12	++9	-	-	+12	orange	=	feucht-klebr. Ra.
13	++10	++14	-	-	-	creme	=	trock.krüm. Ra. mit Ekol.
14	++10	++10	-	(+)	-	creme	=	trock.flach. Ra.
16	++5	++3	-	++9	-	orange	=	feucht-klebr. glatter Ra.
18	++5	++5	-	++5	++5	chrom-gelb	=	trock.krüm. Ekol.
22	+8	++6	-	-	-	creme-hellgelb	=	trock.flacher Ra., wenig Ekol.
25	++4	++3	-	+12	+12	creme	=	wachsperrl. glatte Ekol.
26	++3	++3	-	+8	+12	creme	=	"
27	++6	++5	-	++15	+17	creme	=	feucht.weiche Ra. m. glat. Ekol.
30	++5	++6	-	+7	(+)	creme-strohgelb	=	"
31	++6	++5	-	+15	(+)	creme	=	trock.flach. Ra.
34	+11	++7	-	+15	(+)	creme	=	trock.flach. Ra.
36	++6	++4	-	+19	(+)	grau-weiß	=	weißl. halbkugl. Ekol. u. fl. Ra.

amm- f.	Wachstum auf			Nährag.		Pigmentierung		Kulturbeschreibung
	22°	Petrag. N. 37°	45°	22°	37°	im Dunkeln	nach Beli.	
3	++5	++5	-	(+)	-	grau	=	trock.krüm. Ra.
1	++8	++16	-	(+)	(+)	creme	=	trock.Ekol.
2	++5	++5	-	(+)	(+)	creme	=	trock.flach. Ra.
4	+6	++9	-	(+)	(+)	creme	=	trock.Ra.mit Ekol.
5	++14	++7	-	(+)	(+)	gelb- orange	=	feucht-klebr. glatter Ra.
6	++14	++10	-	+17	-	gelb- orange	=	"
8	++17	++10	-	-	-	gelb- orange	=	"
9	++17	++17	-	(+)	(+)	gelb- orange	=	"
0	++14	++10	-	-	-	gelb- orange	=	"
1	++17	++7	-	-	-	gelb- orange	=	"
2	++16	++14	-	(+)	(+)	gelb- orange	=	"
3	++16	++10	-	-	(+)	chrom- gelb	=	trock.körn.Ekol. in Gruppen
4	++14	++10	-	(+)	(+)	gelb- orange	=	feucht-klebr. Ra.
0	++10	++10	-	-	-	gelb- orange	=	"
1	++10	++10	-	-	-	gelb- orange	=	"
3	++8	++4	-	-	-	orange	=	"
4	++8	++4	-	-	-	orange	=	"
5	++13	++13	-	-	-	gelb- orange	=	"
6	++11	++11	-	(+)	(+)	creme	=	trock.körn.Ra. mit Ekol.
m.P.	++24	++20	-	-	(+)	gelb- orange	=	feucht-klebr. Ra.
7	++13	++13	-	(+)	(+)	creme	=	trock.körn.Ra.m. wachsperl.Ekol.
m.P.	++13	++13	-	-	-	gelb- orange	=	feucht, glatter Ra.
8	+20	+10	-	(+)	-	creme	=	trock.körn.Ra.m. wachsperl.Ekol.
9	+13	+10	-	(+)	-	creme	=	"
0	+10	++13	-	-	-	creme	=	Stämme 79-87: Wachstum
1	++13	+13	-	(+)	-	creme	=	" nur zart
2	++10	++13	-	+13	-	creme	=	"

Stamm- Nr.	Wachstum auf Petrag.N.			Nährag.		Pigmentierung im nach		Kulturbeschreibung
	22°	37°	45°	22°	37°	Dunkeln	Beli.	
95	+10	++16	-	+13	-	creme	=	trock.körn.Ra wachsperl.Eko
97	++10	++13	-	(+)	-	creme- bräunl.	=	"
98	+8	++6	-	(+)	(+)	creme	=	trock.flach. Ra.
99	++6	++13	-	(+)	(+)	creme	=	trock.körn.Ra wachsperl.Eko
100	++10	++16	-	-	-	creme- hellgelb	=	"
100 m.P.	++8	++8	-	-	-	orange	=	feucht-klebr. Ra.m.Ekol.
102	+6	++8	-	-	(+)	grau- creme	=	rau.flach.Ra. wenige Ekol.
112	++6	++8	-	-	-	creme	=	"
115	+8	++8	-	-	-	creme	=	"
116	+7	++8	-	-	(+)	grau- creme	=	", weich
117	+7	++7	-	-	-	creme	=	"
135	+10	++6	-	(+)	-	creme	=	rauher flache Ra.
136	+8	++8	-	-	-	creme	=	"
137	+6	++6	-	(+)	(+)	creme	=	rauher flach. wenige Ekol.
138	+8	++6	-	(+)	(+)	creme	=	"
139	+8	++6	-	(+)	(+)	creme	=	"
140	+10	++6	-	(+)	-	creme	=	"
141	+10	++6	-	(+)	-	creme	=	"
142	+8	++6	-	(+)	-	creme	=	"
143	+8	++6	-	(+)	-	creme	=	"
148	++8	++8	-	(+)	-	gelb- orange	=	feucht-klebr. Ra.m.Ekol.
149	+7	++7	-	+13	+13	creme	=	rau.flacher wenig Ekol.
155	++12	++7	-	(+)	(+)	chrom- gelb	=	feuchter Ra.
160	++9	++5	++5	+9	++5	fahl- gelb	gelb	trock.krüm.Ra
181	+7	++6	-	-	-	creme	=	rau.trock. Ra.
183	+7	++7	-	-	(+)	creme	=	"
186	+9	+5	+?	-	(+)	creme	=	"

mm- .	Wachstum auf			Nährag.		Pigmentierung		Kulturbe- schreibung
	22°	37°	45°	22°	37°	im Dunkeln	nach Beli.	
	+7	++5	-	-	(+)	grau- creme	=	rauh.trock. Ra.
m.P.	++4	++4	-	++4	++4	chrom- gelb	=	feucht.körn. Ra.
	++7	++7	-	-	-	creme	=	rauh.trock. Ra.
m.P.	++13	++7	-	-	-	Stich rosa gelb- orange	=	feucht-klebr. Ra.
	++6	++4	-	(+)	-	creme	=	rauh.trock. Ra.
	++6	++4	-	(+)	(+)	creme	=	"
	++4	++3	-	++6	++4	gelb	=	feucht-klebr. Ra.
	++4	++3	-	++6	++4	gelb	=	"
	++4	++3	-	++4	++4	gelb	"	", rauh
	++4	++4	-	++6	++4	gelb	=	feucht-klebr. glatter Ra.
	++4	++4	-	++4	++4	chrom- gelb	=	trock.rauhe Ekol.

Das Wachstum auf gewöhnlichem Nähragar wurde in der vorstehen-
den Tabelle auch als negativ beurteilt, wenn sich nur - wie
manchmal - vereinzelt stecknadelkopfgroße Einzelkolonien ohne
Ausbreitungstendenz entwickelten.

Alle isolierten Stämme wuchsen sowohl bei 37° als auch bei
Zimmertemperatur gut. Außer bei zwei pigmentierten Stämmen war
innerhalb von 14 Tagen gut sichtbares Wachstum festzustellen.

Das Temperaturverhalten des Stammes 186 bei 45° war unklar. Im
Wasserbad zeigte eines der beiden inkubierten Röhrchen kräfti-
ges Wachstum, das zweite jedoch nicht. Bei Wiederholung des
Versuchs im Brutschrank wuchs der Stamm bei 45° überhaupt nicht
mehr.

Von den 80 isolierten Mykobakterienstämmen zeigten
31 Pigmentbildung und
49 wuchsen ohne Pigment.

Farbstoffbildende Mykobakterien

Photochromogene Mykobakterien, bei denen die Pigmentbildung durch kurzfristige Belichtung induziert werden kann (Gruppe I nach Runyon), befanden sich nicht unter den isolierten Stämmen.

Stämme, die auch im Dunkeln Pigment zu bilden vermögen und als skotochromogene Mykobakterien zur Gruppe II oder als schnellwachsende Mykobakterien zur Gruppe IV nach Runyon gehören können, wurden insgesamt 31 gefunden.

Aufgrund des kulturmorphologischen Verhaltens dieser Stämme ist folgende Unterteilung in 3 Gruppen möglich:

a) Eine Gruppe umfaßt 21 pigmentiert wachsende Stämme mit folgenden gemeinsamen Eigenschaften:

Mikroskopisch handelt es sich meistens um feine, schlanke, mittellange und feingranulierte säurefeste Stäbchen. Alle Stämme zeigten - mit Ausnahme eines Stammes, der schon nach 4 Tagen wuchs - Wachstum innerhalb von 7 - 14 Tagen, bzw. ein Stamm nach 24 Tagen. Bei Zimmertemperatur war das Wachstum ebenso stark, trat jedoch gegenüber dem Wachstum bei 37° mit einiger Verzögerung auf.

Keiner der Stämme wuchs bei 45° und - im Gegensatz zur nachfolgenden Gruppe - auf gewöhnlichem Nähragar. Weiterhin wiesen sie alle bei Bebrütung im Dunkeln gelbes oder gelb-oranges Pigment auf, das sich nach Belichtung nicht wesentlich veränderte. Die Stämme bildeten einen feuchten, glatten und schmierigen Rasen, der leicht von der intakten Nährbodenoberfläche abzustreifen war.

b) Eine zweite Gruppe besteht aus 9 pigmentierten Stämmen. Die Stämme wuchsen bereits nach 3 - 5 Tagen auf Petragran-Nährboden und ebenso schnell oder nur wenig später auch auf gewöhnlichem Nähragar bei Zimmertemperatur und 37°. Die Be-

brütung bei 45° war in allen Fällen erfolglos. Alle hatten im Dunkeln gelbes oder oranges Pigment gebildet, die Belichtung blieb ohne Einfluß.

Bei 4 der Stämme bestanden die Kulturen aus trockenen, rauen Einzelkolonien mit Wachstum von Sekundärkolonien. Die übrigen 5 Stämme wuchsen in Form eines glatten, feuchten und schmierigen Rasens.

c) Der Stamm 160 wird wegen seines kräftigen Wachstums bei 45° gesondert aufgeführt.

Auf Petragrani-Nährboden und auf Nähragar erfolgte bei 22° innerhalb von 9 Tagen und bei 37° sowie auch bei 45° innerhalb von 5 Tagen kräftiges Wachstum in Form trockener, rauher und fahlgelber Kolonien, die zum Teil zu flachen Rasen zusammenflossen. Ältere Kulturen wurden kräftiger gelb, ihre Oberfläche war grobfaltig und die Pigmentierung nach Belichtung tiefer gelb. Junge Kolonien hatten dagegen rahmfarbenes Pigment.

Nicht-farbstoffbildende Mykobakterien

49 der isolierten Mykobakterienstämme bildeten weder bei Dunkelzüchtung noch nach Belichtung Pigment. Ihre Kolonien waren vielmehr ziemlich einheitlich grau bis rahmfarben und boten auch sonst wenig Anhaltspunkte für weitere Unterteilungen der Stämme in Gruppen. So wuchsen sie meist trocken in Gestalt eines flachen Rasens, z.T. mit größeren oder kleineren Einzelkolonien.

Alle Stämme wuchsen bei Zimmertemperatur und 37° auf Petragrani-Nährboden, keiner jedoch bei 45° . Nur der kleinere Teil der Stämme vermehrte sich auch auf Nähragar.

Es bietet sich die Einteilung nach der Wachstumszeit und nach dem Wachstum auf Nähragar an, um die schnellwachsenden Mykobakterienarten abzugrenzen:

12 Stämme (25, 26, 27, 30, 31, 36, 38, 42, 186, 187, 196 und 197) können zu einer Gruppe von eindeutig schnellwachsenden Mykobakterien zusammengefaßt werden. Bei ihnen war spätestens 5 Tage nach Anlegen der Kultur bei 37°-Bebrütung Wachstum feststellbar und gleichzeitig oder wenig später auch bei 22°. Bei 7 dieser Stämme war auch die Agarkultur deutlich positiv, bei dem Rest stellte sich nur geringes wenn auch deutlich registrierbares Wachstum ein.

Die übrigen 37 Stämme wuchsen langsamer, wobei es möglich ist, eine Gruppe von 25 Stämmen mit einer Wachstumszeit von 6 - 8 Tagen und eine weitere mit 12 Stämmen mit einer Wachstumszeit von 10 - 13 Tagen zu unterscheiden. Bei den Stämmen dieser beiden Gruppen war die Vermehrung auf Agar bestenfalls gering, mit Ausnahme eines Stammes, der auf Nähragar deutliches Wachstum zeigte.

Eine scharfe Trennung der 37 Stämme in zwei Gruppen scheint nicht gerechtfertigt, da sie nur aufgrund der nicht sehr unterschiedlichen Wachstumszeit vorgenommen werden könnte. Die Zuordnung der Stämme zu den schnellwachsenden saprophytären Mykobakterien oder zu den gewöhnlich langsamer wachsenden der Gruppen I - III nach Runyon ist fraglich.

2.2 Differenzierung in der Amidreihe nach BÖNICKE

Sämtliche Stämme wurden auf ihre azylamidatische Stoffwechselleistung geprüft.

Die Ergebnisse sind in Tabelle 6 zusammengestellt. Die Reaktionsergebnisse nach 6 und 22 stündiger Inkubation des Bakterien-Amidgemisches werden nur gesondert nebeneinander aufgeführt, wenn sie differieren.

Stamm- Nr.	1	2	3	4	5	6	7	8
76	-	-	(+)	++	-	-	-	-
78	(+)	++	-	+	+++	-	+	+++
78 m.P.	-	-	-	-	-	-	-	-
79	(+)	++	-	+	++	-	+	+++
79 m.P.	-	-	-	-	-	-	-	-
80	-	++	-	(+)	++	-	-	(+)
83	-	++	-	(+)	++	-	-	++
84	-	++	-	-	++	-	-	(+)
87	-	++	-	-	+	-(+)	+	(+)
92	-	++	-	-	+	-	+	-
95	-	-	-	+	++	-	(+)	+
97	-	-	-	(+)	-	(+)	++	(+)
98	-	++	-	-	++	-	(+)	+
99	-	-	-	+	++	-	-	+
100	-	-	-	(+)	-	-	+	(+)
100 m.P.	-	-	-	+	++	-	-	-
102	-	-	-	-	-	-	-	-
112	+	++	-	+	+++	-	(+)	+
115	-	-	-	-	-	+	++	+
116	-	-	-	+	-	-	+	-
117	-	-	-	-	-	+	(+)	+
135	+	++	-	+	++	-	-	+
136	-	-	-	++	+++	-	-	+
137	-	+	-	+	++	-	+	(+)
138	-	(+)	-	(+)	++	-	-	++
139	-	++	-	+	++	-	-	+
140	+	+++	(+)	+	+++	-	-	+
141	+	++	-	-	++	-	-	+
142	-	++	-	(+)	++	-	-	+
143	-	-	-	++	+++	-	-	+
148	-	-	-	-	-	-	-	-
149	+	++	-	(+)	++	-	-	+
155	-	-	-	+	++	-	-	-
160	-	++	-	+	+++	-	-	+
181	-	-	-	++	+++	-	(+)	+

	1	2	3	4	5	6	7	8	9
-	-	+	++	-	-	+	-	+	-
-	+	-	+	++	(+)	(+)	+	-	+
-	-	+	+++	-	-	+	(+)	+	-
P. -	-	(+)		-	-	++	-	++	-
+	++	-	(+)	++	-	-	+	-	+
P. -	-	(+)		-	-	-	-	-	-
-	-	-		-	(+)	+	-	-	-
+	++	-	+	+++	-	+	++	(+)	+
-	-	(+)	+	-	(+)	++	(+)	++	-
-	-	(+)		-	(+)	++	(+)	+	-
-	+	-	-	++	-	+	+++	(+)	++
-	++	-(+)	-	+	-	(+)	++	(+)	++
-	-	-	+	-	+	++	(+)	++	-

2.3 Verwertung von Kohlenhydraten

Zur Testung ausgewählt wurden Stämme, die nach den bisherigen Untersuchungen zur Mykobakteriengruppe IV nach Runyon gerechnet werden konnten und bei denen die Kenntnis bestimmter Kohlenhydrat-Stoffwechselleistungen zu weiterer Species-Differenzierung führen kann; es wurden aber auch einige langsamer wachsende Stämme geprüft, bei denen das bisherige Untersuchungsergebnis widersprüchlich war.

Die Testreihe kam bei insgesamt 32 Stämmen zur Anwendung, von denen folgende 24 auf keinem der beimpften Zuckernährböden deutliches Wachstum mit Farbumschlag zeigten: 13, 14, 27, 30, 31, 38, 78, 79, 80, 83, 84, 99, 116, 117, 135, 137, 139, 140, 141, 142, 186, 191, 196 und 197.

Die Ergebnisse bei den übrigen 8 Stämmen sind in Tabelle 7 wiedergegeben.

Tabelle 7: Zuckerverwertung von 8 Mykobakterienstämmen

Stamm-Nr.	Arabinose	Fruktose	Galaktose	Inositol	Mannit	Rhamnose	Sorbit
2	-	+	-	+	+	-	-
16	+	+	-	+	+	(+)	-
18	-	+	-	-	-	-	-
25	+	+	-	+	+	-	(+)
26	-	-	-	-	+	-	(+)
187	-	+	-	+	+	-	-
210	-	+	-	+	+	-	(+)
212	+	+	-	+	+	-	-

4. Zusammenfassendes Differenzierungsergebnis

Unter Berücksichtigung der Ergebnisse der kulturellen Untersuchung, des Amidasespektrums und gegebenenfalls des Zuckervergärungsspektrums können die isolierten 80 Mykobakterienstämmen in folgende Species oder zumindest Gruppen differenziert werden (s. auch Tab. 8):

Zur Species M. aquae gehören 8 Stämme und 13 zur Species M. aquae var. ureolyticum. Es ist dies die Gruppe von 21 Stämmen, die schon aufgrund ihrer sehr ähnlichen Eigenschaften (s.u. 2.1a) als einheitliche Mykobakteriengruppe erkannt worden war und die als einzige der nach kulturellen Merkmalen gebildeten Gruppen durch die Testung in der Amidreihe in ihrer Einheitlichkeit ausnahmslos bestätigt wurde.

Weiterhin aus der Gruppe II nach Runyon konnten wahrscheinlich 7 Stämme M. scrofulaceum isoliert werden. Diese Stämme sind durch kurze kräftige und gleichmäßig geformte Stäbchen charakterisiert. Sie wuchsen auf Petraghani-Nährboden in 1 - 2 Wochen mit cremefarbenem Pigment, auf Nähragar war dagegen höchstens geringes Wachstum nachzuweisen. Die Kulturen

bestanden gewöhnlich aus einem flachen Bakterienrasen und glatten Einzelkolonien. Nach längerer Kultivierung wuchsen die Stämme nur noch mäßig. Von den Amiden wurde Harnstoff, Nikotin- und Pyrazinamid angegriffen. Auf das mäßig langsame Wachstum und vor allem das Verhalten in der Amidreihe stützt sich die Diagnose. Die Abgrenzung gegen *M. flavescens* ist durch das dysgone Wachstum und durch das blassere Pigment möglich. Um die Abgrenzung zu objektivieren ist allerdings die Anwendung weiterer biochemischer Methoden (SCHRÖDER u. Mitarb. (70)) - als Zusatztest insbesondere die Prüfung des Wachstums auf Oleatagar - notwendig.

In die Gruppe III nach Runyon werden die 10 Stämme 10, 22, 34, 36, 97, 100, 102, 115, 117 und 196 eingeordnet. Sie gehören zur immer apathogenen Radish-Complex-Gruppe, die sich durch ihr Wachstum bei 22° bzw. das fehlende Wachstum bei 45° von den übrigen Mykobakterienarten der Gruppe III abtrennen läßt (MEISSNER (49)).

Bakterioskopisch ergab sich kein einheitliches Bild. Auch die Wachstumszeit war nicht sehr einheitlich, so wuchsen 2 Stämme schon nach 4 Tage, 6 Stämme nach 6 - 8 Tagen und 2 nach 10 Tagen. Die Stämme gingen nicht oder höchstens gering auf Nähragar an, auf Petragani-Nährboden bildeten sie bei 22° und 37° einen trockenen bis mäßig feuchten flachen Rasen mit (besonders Stamm 36) halbkugeligen Einzel- und Sekundärkolonien von hellgelber - Stich bräunlicher Farbe. Bei 22° war das Wachstum oft deutlich zarter. Der Testung in der Amidreihe kommt besondere Bedeutung zu, da einige Mykobakterienarten ähnliche kulturelle Eigenschaften haben. Sie bildet als Basistest die Grundlage für die Klassifizierung bzw. Eingruppierung.

5 Stämme spalteten überhaupt keines der Amide, sie gehören demnach zu den Species M. novum oder triviale. Die übrigen 5 Stämme bildeten aus Nikotinamid und Pyrazinamid Ammoniak, es muß sich bei ihnen um Angehörige der Art M. terrae handeln (MEISSNER (50)).

Ein Teil der isolierten Stämme wurde der Gruppe IV des Schemas nach Runyon zugeordnet, da diese Stämme schnell wuchsen und meist ein spezifisches und breites acylamidatisches Spektrum hatten.

Bei dem Stamm 160 handelt es sich um M. phlei. Die kulturmorphologischen Eigenschaften dieses Stammes sind im Abschnitt 2.1 a bereits beschrieben. Die Amide Harnstoff, Nikotin- und Pyrazinamid wurden vollständig gespalten. Durch dieses Amidaspektrum, dem kräftigen Wachstum bei 45° und der mäßigen Skotochromogenität ist diese Species unter den schnellwachsenden Mykobakterien eindeutig zu klassifizieren.

Ebenfalls sicher identifizieren ließ sich der Stamm 16 als M. vaccae. Nach 3 bzw. 5 Tagen kräftiges Wachstum bei 22 und 37° auch auf Agar-Nährboden sichtbar. Die Nährböden waren mit einem feuchten, glatten und schmierigen orangefarbenen Rasen bedeckt. Außer Salicylamid wurden alle Amide desamidiert. Das Spektrum der Zuckervergärung war insofern nicht ganz spezifisch, als zwar Arabinose, Fruktose, Inosit und Mannit intensiv, die Rhamnose jedoch nur gering vergärt wurden.

Bei einem weiteren Stamm (Nr. 212) sprechen einige Kriterien für die Zugehörigkeit zur Species M. vaccae. Er wuchs ebenfalls schnell (3 - 4 Tage) auf beiden Nährbodenarten und bildete im Dunkeln gelbes Pigment. Von den Zuckern wurde jedoch Rhamnose nicht angegriffen, und auch in der Amidprobe verhielt er sich nicht ganz typisch, er setzte die Amide 2 und 8 nur schwach und 4 garnicht um.

In die Fortuitum-Gruppe konnten die 14 Stämme 26, 27, 98, 112, 135, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 149, 191 und 197 eingeordnet werden. Bei den Keimen dieser Gruppe handelte es sich um kurze Stäbchen, bei manchen Stämmen fanden sich bisweilen kurze Stäbchen in leichter Keulenform, die durch ein deutliches, endständiges Granulum bedingt ist (GORDON u. SMITH (25)). Die Kulturen waren nach 3 - 6 Tagen bei 22 und 37° angegangen und bestanden aus grau-rahmfarbenen flachen Rasen

mit stumpfer Oberfläche und feinen glatten Einzelkolonien. Von den Amidon wurden Acetamid, Harnstoff, Nikotinamid, Pyrazinamid und Allantoin abgebaut; Nikotin- und Pyrazinamid meist geringer als die übrigen Amide. Die Zuckerwertung der Stämme war nicht einheitlich; die Mehrzahl verwertete keinen der angebotenen Zucker, der Stamm 26 griff die Mannose an. Diese Ergebnisse erlauben noch keine Differenzierung innerhalb der Fortuitum-Gruppe.

Ein weiterer Stamm - Nr. 25 - gehört nach seinen kulturellen Eigenschaften und seinem Amidasenspektrum ebenfalls zum Fortuitum-Komplex. Nach seinem Vermögen bestimmte Zucker zu vergären verhält sich der Stamm 25 (Arabinose, Fruktose, Inositol und Mannit eindeutig positiv) wie *M. diernhoferi*, so daß mit den angestellten Untersuchungen und den widersprüchlichen Ergebnissen eine Klassifizierung nicht möglich ist.

24 Stämme konnten mit den eingesetzten Methoden nicht klassifiziert werden. Sie lassen sich aber aufgrund einiger übereinstimmender Merkmale in Gruppen zusammenfassen:

Zur Gruppe 1 gehören die sieben schnellwachsenden skotochromen Stämme 2, 18, 187, 206, 207, 210 und 213, die in 3 - 5 Tagen auch auf Nähragar kräftig und im Dunkeln mit gelbem bis chromgelbem Pigment wuchsen. Das mikroskopische Bild dieser Stämme ist durch kurze, z.T. kokkoide Stäbchen gekennzeichnet.

Gruppe 1a: Bei 2 dieser Stämme - 2 und 210 - waren die Nährböden mit trockenen, krümeligen und rauen Kolonien bewachsen. Das Amidasenspektrum der beiden Stämme entspricht dem der Species *M. fortuitum*, ihr Verhalten in der Zuckerreihe weicht jedoch erheblich ab (s. Tab. 7).

Gruppe 1b: Von den übrigen 5 Stämmen schnellwachsender skotochromer Mykobakterien hatten einige das gleiche kulturelle Verhalten wie die beiden oben erwähnten Stämme, bei anderen bestanden die Kulturen aus einem feuchten, glatten und schmierig-klebrigen Rasen. Von den Amid-Testen waren Harnstoff

schwach, Nikotin- und Pyrazinamid deutlich positiv. Bei keiner der schnellwachsenden Mykobakterienart ist dieses Amidaspektrum nachgewiesen, es ist vielmehr - neben dem gelben Pigment - typisch für die Art *M. flavescens* aus der Gruppe II, die jedoch langsamer wächst. Zur Bestimmung dieser Stämme wären deshalb weitere Differenzierungsmethoden einzusetzen.

Die Gruppe 2a umfaßt die 8 unpigmentierten, d.h. grau bis rahmfarbenen Stämme 13, 78, 79, 80, 83, 84, 87 und 92. Nach ihren kulturellen Eigenschaften und den Ergebnissen in der Amidreihe - wobei die Amide 5 und 6 nach BÖNICKÉ allerdings nur gering umgesetzt wurden - könnten sie der Species *M. fortuitum* angehören. Sie wuchsen jedoch - wie langsam wachsende atypische Mykobakterien - erst nach 10 - 13 Tagen, so daß über ihre Eingruppierung Zweifel bestehen.

Eine weitere kleine Gruppe unpigmentierter Stämme, Gruppe 2b, wird von den 3 Stämmen 30, 31 und 38 gebildet. Die Stämme zeigten in ihrem einheitlichen kulturellen Verhalten, daß sie zu den schnellwachsenden Mykobakterien zählen: Wachstum bei 22 und 37° in 5 Tagen, Wachstum auch auf Nähragar. Von den 9 angebotenen Amiden wurde nur Harnstoff angegriffen. In der Zuckerreihe blieben alle Röhrchen negativ. Außerdem ist zu erwähnen, daß die Stämme nach einigen Subkultivierungen (5./6. Subkultur) nur noch spärlich und dysgon wuchsen.

In eine Gruppe 2c werden die 3 Stämme 99, 116 und 143 zusammengefaßt: Wachstum nach 5 - 7 Tagen in Form cremefarbener Rasen mit wenigen glatten Einzelkolonien. Die Stäbchen sind kurz und kräftig. Die Amide 3, 5, 6 und 8 wurden in unterschiedlicher Intensität gespalten, womit sie keiner der in der Amidreihe geprüften Arten zuzuordnen sind. Auf keinem der Zuckernährböden fand Wachstum und Farbumschlag statt.

Es bleiben noch die Stämme 14, 186 und 187 zu erwähnen:

Der Stamm 14 wuchs relativ langsam, in geringem Maße auch auf Agar bei 22°. Der Rasen hatte eine streuselähnliche Oberfläche, daneben waren Gruppen größerer Einzelkolonien vorhanden. In der Amidreihe waren die Amide 1, 3 und 8 positiv.

Ebenso unklar ist das Untersuchungsergebnis beim Stamm 186 (s. auch S. 25), vor allem wegen seines wechselhaften Verhaltens bei der 45⁰-Bebrütung und seiner Fähigkeit, die Amide 1, 3, 5, 6, 8 und 9 zu spalten.

Vom schnellwachsenden Stamm 187 liegen widersprüchliche Ergebnisse vor. In der Amidreihe verhielt er sich wie *M. thamnopheos* (Amide 3, 5, 6 und 8 positiv). In der Zuckerreihe wurden Fruktose, Inosit und Mannit gespalten, der Galaktose-Nährboden blieb aber negativ, so daß die Artzugehörigkeit auch des Stammes 187 ungeklärt ist.

Die Aufschlüsselung der Typisierungsergebnisse ist in Tabelle 8 enthalten.

Tabelle 8: Ergebnis der Isolierung und Differenzierung

Jeder Absatz umfaßt die Proben aus jeweils einem Bestand.

Probe- u. Stamm- Nr.	Ergebnis der Differenzierung	Probe- u. Stamm- Nr.	Ergebnis der Differenzierung
2	<i>M. spec.</i> (1a)	34	Radish-Complex
10	Radish-Complex	36	Radish-Complex
10 m.P.	<i>M. aquae</i>	38	<i>M. spec.</i> (2b)
13	<i>M. spec.</i> (2a)		
14	<i>M. spec.</i>	41	<i>M. scrofulaceum</i>
16	<i>M. vaccae</i>	42	<i>M. scrofulaceum</i>
18	<i>M. spec.</i> (1b)	44	<i>M. scrofulaceum</i>
22	Radish-Complex	45	<i>M. aquae</i>
25	<i>M. fort./diernh.?</i>	46	<i>M. aquae</i> var. <i>ureol.</i>
26	<i>M. fortuitum</i>	48	<i>M. aquae</i> var. <i>ureol.</i>
		49	<i>M. aquae</i> var. <i>ureol.</i>
27	<i>M. fortuitum</i>	50	<i>M. aquae</i>
30	<i>M. spec.</i> (2b)	51	<i>M. aquae</i> var. <i>ureol.</i>
31	<i>M. spec.</i> (2b)	52	<i>M. aquae</i> var. <i>ureol.</i>

Probe- u. Stamm- Nr.	Ergebnis der Differenzierung	Probe- u. Stamm- Nr.	Ergebnis der Differenzierung
53	M. aquae var. ureol.	135	M. fortuitum
59	M. aquae var. ureol.	136	M. scrofulaceum
60	M. aquae	137	M. fortuitum
61	M. aquae var. ureol.	138	M. fortuitum
68	M. aquae var. ureol.	139	M. fortuitum
71	M. aquae var. ureol.	140	M. fortuitum
76	M. aquae var. ureol.	141	M. fortuitum
		142	M. fortuitum
78	M. spec. (2a)	143	M. spec. (2c)
78 m.P.	M. aquae		
79	M. spec. (2a)	148	M. aquae
79 m.P.	M. aquae	149	M. fortuitum
80	M. spec. (2a)		
		155	M. aquae var. ureol.
83	M. spec. (2a)	150	M. phlei
84	M. spec. (2a)		
		181	M. scrofulaceum
87	M. spec. (2a)	183	M. scrofulaceum
92	M. spec. (2a)		
		186	M. spec.
95	M. scrofulaceum		
97	M. terrae	187	M. spec.
98	M. fortuitum	187 m.P.M.	M. spec. (1b)
99	M. spec. (2c)		
100	M. terrae	191	M. fortuitum
100 m.P.	M. aquae var. ureol.	191 m.P.M.	M. aquae
		196	M. terrae
102	Radish-Complex	197	M. fortuitum
112	M. fortuitum	206	M. spec. (1b)
115	M. terrae	207	M. spec. (1b)
116	M. spec. (2c)		
117	M. terrae	210	M. spec. (1a)
		212	M. vaccae ?
		213	M. spec. (1b)

IV. Besprechung der Ergebnisse

Die vorliegende Untersuchung soll einen Beitrag zum Vorkommen atypischer Mykobakterien in der näheren Umgebung der landwirtschaftlichen Nutztiere liefern. Anstoß dazu gab ein von HELLMANN (32) mitgeteiltes Untersuchungsergebnis: Aus Wasserhähnen seines Instituts konnten neben skotochromogenen Mykobakterien 3 Stämme atypischer Mykobakterien gezüchtet werden, bei denen es sich um aviäre Stämme mit herabgesetzter Virulenz handelte.

Im Rahmen meiner Untersuchungen galt es zu klären, ob auch an Viehtränken ähnliche Befunde erhoben werden können.

Hierzu wurden Tupferproben aus den Wasseraustrittsstellen von Viehtränken in 2 %igem Glycerinwasser zur Anreicherung gebracht, dann mit 6 %iger Schwefelsäure vorbehandelt und die Anzüchtung versucht. Dabei stellte sich heraus, daß 15 % der Proben wegen starker Verunreinigung mit Begleitkeimen für die weitere Untersuchung total ausfielen. BEERWERTH (3) hat im Vergleich dazu bei seinen Untersuchungen wesentlich weniger Totalausfälle gehabt. Er wendete zur Isolierung von Mykobakterien aus dem Kot der Haustiere bzw. aus Boden- und Abwasserproben ein kombiniertes Vorbehandlungsverfahren an, indem er erst 4 %ige Natronlauge und dann 5 %ige Oxalsäure auf das Probenmaterial einwirken ließ. Dadurch erhielt er nur 1,3 bzw. 0,8 % Totalausfälle. Auch SCHÜRMANN (71) und POPP (61) verzeichneten bei der Untersuchung von Hühnerkot bzw. Sägemehl mit dieser Vorbehandlungsmethode weniger als 1 % Ausfälle durch Verunreinigungen, sie teilen allerdings nicht den Anteil der steril gebliebenen Kulturen mit.

Es kann angenommen werden, daß auch bei den an Viehtränken vorhandenen Mikrobiozönosen das Vorbehandlungsverfahren nach BEERWERTH eine bessere Abtötung der Begleitflora bewirkt hätte, als dies durch die Behandlung mit Schwefelsäure erreicht wurde. Zumal die saprophytären Mykobakterien besonders

gegen Schwefelsäure empfindlich sind (MEISSNER und SCHMIEDL (51a)). Es sei jedoch erwähnt, daß KOEDEL (44) mit Schwefelsäure (6 Vol.%) im Vergleich zu anderen Vorbehandlungsmethoden die besten Resultate erzielte.

Insgesamt ließen sich aus 75 (41,4 %) von 181 auswertbaren Tupferproben 80 verschiedene Mykobakterienstämme züchten. In Wirklichkeit dürfte der Prozentsatz der mit Mykobakterien besiedelten Viehtränken sogar noch höher als bei 41 % liegen, weil durch die Vorbehandlungsmethoden sicherlich auch eine Reduzierung der mykobakteriellen Keime stattfand. Die Angaben von MERTEN (52), nach denen sich bei mikroskopischer Untersuchung an Wasserhähnen der Stadt Frankfurt zu 72 % säurefeste Stäbchen nachweisen ließen, könnten dies bestätigen.

Im einzelnen konnten an den 181 Viehtränken Mykobakterien der Gruppen II, III und IV nach Runyon nachgewiesen werden: 8 mal *M. aquae* und 13 mal *M. aquae* var. *ureolyt.*, 7 mal *M. scrofulaceum*, 10 mal Mykobakterien der Radish-Complex-Gruppe (darunter 5 mal *M. terrae*), 14 mal Stämme der Fortuitum-Gruppe und je 1 mal *M. phlei* und *M. vaccae*. 26 weitere Stämme konnten nicht klassifiziert werden, weil zwischen ihren kulturellen und biochemischen Eigenschaften Diskrepanzen bestanden oder ihr vorgefundenes Amidspektrum nicht spezifisch für eine Art oder Gruppe nach Runyon war. Auch zeigte sich, daß die Wachstumsgeschwindigkeit nicht immer eine sichere Zuordnung zu den langsam- oder schnellwachsenden Mykobakterien erlaubt.

Die nicht klassifizierten Stämme mit gleichen kulturellen Eigenschaften und Stoffwechselleistungen wurden in Gruppen zusammengefaßt. Auf diese Weise ließen sich 5 Gruppen bilden.

Es kann festgestellt werden, daß an Viehtränken grundsätzlich ähnliche Befunde erhoben werden können wie sie an Wasserhähnen von früheren Untersuchern mitgeteilt wurden (BEITZKE (5), BREM (12), SCHERN und DOLD (65), EICHBAUM (19), MERTEN (52) u.a.). Allerdings beschränken sich diese früheren Untersuchungen zum Teil lediglich auf den Nachweis säurefester Stäbchen,

bzw. war die Systematik der atypischen Mykobakterien noch wenig ausgebaut, so daß ein direkter Vergleich mit unseren Ergebnissen nicht möglich ist.

FROMAN (22) hat in neuester Zeit in den USA aus Proben von Wasserhähnen *M. kansasii* isoliert und damit erstmals einen natürlichen Standort dieser Mykobakterienart gefunden. An den Ausflußöffnungen von Viehtränken haben wir dagegen keine Mykobakterien der Gruppe I nach Runyon feststellen können, obgleich hier ähnliche Milieubedingungen wie an Wasserhähnen herrschen.

An den Tränken wurden keine obligat pathogenen Mykobakterien gefunden.

Indessen können die festgestellten Mykobakterienspecies - mit Ausnahme der Radish-Complex-Gruppe und der Art *M. vaccae* - als Ursache von Mykobakteriosen und Parallergien in Erscheinung treten. Insbesondere wurden diese Keimarten wiederholt aus tuberkuloseähnlichen Lymphknotenverkäsungen bei Schlachtschweinen isoliert.

Dem *Mycobacterium scrofulaceum* kommt beim Menschen häufig eine pathogene Bedeutung zu (KESTLE u. Mitarb. (43), MEISSNER und SCHMIEDEL (51b)). Bei Tieren ist seine Bedeutung noch unbekannt, immerhin konnte SCHAEFER (64) diese Mykobakterienart auch aus Schweinen isolieren.

Die verschiedenen Mykobakterienarten traten geographisch zum Teil in unterschiedlicher Häufigkeit auf. So wurden 15 von 21 Stämmen *M. aquae* in Proben aus Berlin gefunden, 4 von 7 Stämmen *M. scrofulaceum* stammen aus dem Bayer. Wald, ebenso 7 von 8 Stämmen einer von uns mit 2a bezeichneten Gruppe nicht differenzierter Mykobakterienstämmen und 8 von 14 *M. fortuitum* wurden in Proben aus der Eifel aufgefunden. Die Anzahl der Proben ist jedoch zu gering (40 - 60 aus jedem Gebiet), um eine Zufälligkeit dieser Unterschiede auszuschließen. Immerhin haben auch WOLINSKY und RYNEARSON (87) in den USA regionale Unterschiede bei der Häufigkeit des Vorkommens einzelner

Mykobakterienarten bemerkt. Sie berichten außerdem, daß offensichtlich auch die Bodenart eine Rolle spielt: 8 von 9 skotochromogenen Stämmen wurden aus Schlamm und *M. fortuitum* vor allem aus Lehm isoliert.

Interessant ist in diesem Zusammenhang die Tatsache, daß wir in einigen Viehbeständen nur eine Mykobakterienart in den Viehtränken auffinden konnten:

in einem Bestand im Bayer. Wald an 3 von 6 Rindertränken *M. scrofulaceum*,

in einem kleinen Zuchtschweinebestand bei Göttingen aus 2 von 3 Tränken ebenfalls *M. scrofulaceum*,

in einem Rinderbestand in der Eifel aus 7 von 9 Tränken *M. fortuitum* (an den 2 übrigen Tränken 1 mal *M. scrof.* und einen nicht differenzierten Stamm)

und in einem nutztierhaltenden Institut in Berlin an 15 von 32 Nippeltränken für Schweine und Hühner *M. aquae* bzw. *M. aquae* var. *ureolyticum*.

Es ist bemerkenswert, daß an den Nippeltränken des zuletzt genannten Instituts in Berlin ausschließlich *M. aquae* und die ureasepositive Variante dieser Art vorhanden waren. Diese Keime könnten am ehesten den in früheren Jahren gefunden säurefesten "Trompetenbazillen" entsprechen, weil das Milieu an Mundstücken von Blasinstrumenten und an Nippeltränken sehr ähnlich ist (Messing, Speichel, Wasser). Aber auch an Nippeltränken aus Plastik für Geflügel waren skotochromogene Mykobakterien zu finden.

Möglicherweise besteht eine Beziehung zwischen der am Ort der Wasserfassung vorhandenen Bodenzusammensetzung und der Besiedelung der Wasserversorgungsanlagen mit Mykobakterien. Sicherlich haben aber auch das Mikroklima im Bereich der Wasserzapfstellen (Temperatur, Feuchtigkeit, Tageslicht usw.) und andere Faktoren (z.B. Futterart, Metallsalze, Hygiene) einen selektierenden Einfluß.

Die Keime könnten vom Boden über das Leitungswasser an die Ausflußöffnungen gelangen, denn insgesamt gesehen deckt sich das an den Ausflußöffnungen der Viehtränken nachgewiesene Mykobakterienspektrum weitgehend mit dem von KUBICA u. Mitarb. (46) und BEERWERTH und SCHÜRMANN (4) im Boden gefundenen, und auch hier bilden die skotochromogenen Mykobakterien die größte Gruppe. Andererseits ist aber auch die mykobakterielle Besiedlung der Tränken durch dem Futter, der Einstreu, dem Stallstaub oder den Tieren selbst anhaftende Keime denkbar.

Nach den letztgenannten Autoren wird das Futter in unterschiedlichem, aber in jedem Falle erheblichem Grade aus dem Boden mit Mykobakterien kontaminiert. Demzufolge werden den Nutztieren über Tränkwasser und Futter mehr oder weniger kontinuierlich Mykobakterien der verschiedensten Species zugeführt.

Bei dem relativ seltenen Auftreten von Mykobakteriosen und parallergetischen Tuberkulinreaktionen können die alimentär oft in erheblichen Mengen aufgenommenen atypischen Mykobakterien nur in wenigen Einzelfällen ätiologisch von Bedeutung sein.

In diesem Sinne sind auch unsere an Tränken erhobenen Befunde zu werten. Es ist denkbar, daß insbesondere bei intensiv gehaltenen Schweinen die Tränken als Keimreservoir für skotochromogene Mykobakterien von einiger Bedeutung sind, da diese Keime hier häufig zu finden sind, und die Zufuhr von Mykobakterien über das Futter in geringerem Maße als bei anderen Haltungsbedingungen erfolgt.

Im Infektionsgeschehen mit atypischen Mykobakterien müssen bislang unbekannte Faktoren eine Rolle spielen. In diesem Zusammenhang ist die Frage nach der Variabilität von Mykobakterien von besonderem Interesse. In neuester Zeit ist dieses Gebiet von NASSAL (56) sowie HARTWIGK und STOTTMEIER (28) bearbeitet worden. Bei ihren Untersuchungen fanden sie häufig, daß sowohl echte Tuberkelbakterien wie auch saprophytäre Mykobakterienarten durch Tierpassagen ihre biochemischen und

virulenten Eigenschaften in Richtung auf das *Mycobacterium avium* veränderten.

Aufgrund der Tatsache, daß Sensibilisierungen durch atypische Mykobakterien beim Menschen früh (meist mit 17 - 21 Lebensjahren) auftreten, aktive Prozesse durch diese Keime dagegen in der Regel erst in höherem Lebensalter (50 - 60 Jahren), nehmen KUBICA u. Mitarb. (46) an, daß diese Mikroorganismen durch jahrelangen Aufenthalt im Gewebe menschlicher und tierischer Wirte ihre biochemischen Eigenschaften ändern können, ihre serologischen Charakteristika jedoch behalten. Nach WOLINSKY und RYNEARSON (87) bestehen dagegen zwischen aus der Erde und menschlichen Krankheitsprozessen isolierte skotochromogenen Mykobakterien serologische Unterschiede. Sie glauben deshalb nicht, daß der Boden als Keimreservoir für menschliche Mykobakteriosen in Frage kommt.

Abschließend kann festgestellt werden, daß in den Viehtränken ein breites Spektrum atypischer Mykobakterien der Gruppen II, III und IV nach Runyon zu finden ist. Es deckt sich weitgehend mit dem im Boden nachgewiesenen Mykobakterienvorkommen.

In einzelnen Fällen kommt es an den Tränken eines Bestandes zur Ansiedlung von nur einer Mykobakterienspecies, was möglicherweise zu einer verstärkten Belastung der Tiere mit dieser Mykobakterienart führt. Die Ursachen dieser Speciesselektion sind vermutlich in ökologischen Faktoren zu suchen.

Nach Angaben in der Literatur kann ein Teil der von uns isolierten Mykobakterienarten bei Nutztieren eine Allergisierung sowohl gegen Geflügel- als auch gegen Säugertuberkulin bewirken und in Einzelfällen auch Mykobakteriosen verursachen, wie z.B. isolierte tuberkuloseähnliche Lymphknotenverkäsungen.

Somit müssen nach unseren Untersuchungen die Viehtränken als potentielle Quelle für makobakterielle Infektionen und allergische Sensibilisierungen der Haustiere gelten.

V. Zusammenfassung

1. Zum Vorkommen atypischer Mykobakterien in der unmittelbaren Umgebung der landwirtschaftlichen Nutztiere wurde ein Beitrag geleistet, indem automatische Viehtränken für Rinder und - in geringerem Umfang - für Schweine und Hühner systematisch untersucht wurden.

2. In 21 Rinderstallungen, 3 Schweine- und 3 Geflügelställen in verschiedenen Gegenden der Bundesrepublik wurden insgesamt 213 Tupferproben aus dem Bereich der Wasserausflußöffnungen der Tränken gewonnen.

3. Die Anzüchtung der Keime erfolgte nach Anreicherung in Glycerinwasser auf Petragnani-Witte-Nährböden. Die Differenzierung der Stämme wurde an Hand kultureller Merkmale sowie des Verhaltens in der Amidreihe nach B ö n i c k e und - bei einem Teil der Stämme - des Vermögens, einige Kohlenhydrate zu verstoffwechseln, vorgenommen.

4. Aus 75 von 181 auswertbaren Proben konnten insgesamt 80 Mykobakterienstämme gezüchtet werden. Damit waren in 41,4 % der Viehtränken Mykobakterien nachweisbar.

Die Keime gehören zu den Gruppen II, III und IV nach R u n - y o n .

54 Stämme wurden klassifiziert oder Gruppen zugeordnet:

8 Stämme	M. aquae
13 "	M. aquae var. ureolyt.
7 "	M. scrofulaceum
10 "	Radish-Complex-Gruppe
14 "	Fortuitum-Gruppe
1 Stamm	M. phlei
1 "	M. vaccae

Bei 26 Stämmen war die Klassifizierung nicht möglich. Sie ließen sich in 5 Gruppen einteilen.

5. In einigen Tierbeständen konnte aus allen Tränken nur jeweils eine Mykobakterienspecies isoliert werden. Die verschiedenen atypischen Mykobakterienarten traten geographisch zum Teil in unterschiedlicher Häufigkeit auf.

6. Die epidemiologische Bedeutung der Untersuchungsergebnisse wurde diskutiert.

"The Occurrence of Atypical Mycobacteria in Automatic Drinkers for Cattle"

S u m m a r y

1. A contribution was paid to the occurrence of atypical mycobacteria in the immediate environment of animals utilized in agriculture by investigating automatic drinkers for cattle and - at a small extent - for pigs and poultry systematically.

2. In 21 cowsheds, 3 pigsties and 3 hen-houses in different areas of the Federal Republik a total of 213 swabs were obtained from the water outlet openings of the automatic drinkers.

3. The bacteria were cultivated on Petragnani-Witte breeding grounds after enrichment in glycerin-water. The differentiation of the strains was carried out in the light of cultural characteristics as well as the reaction upon Bönicke amidase-activity and - with part of the strains - of the ability of utilization of carbohydrates.

4. A total of 80 mycobacteria strains could be cultivated from 75 of 181 evaluable samples. Thus atypical mycobacteria were identified in 41,4 % of the automatic drinkers for productive livestock.

The bacteria belonged to Runyon Groups II, III and IV.

54 strains were classified or coordinated to groups:

8 strains	<i>M. aquae</i>
13 strains	<i>M. aquae</i> var. <i>ureolyt.</i>
7 strains	<i>M. scrofulaceum</i>
10 strains	Radish-Complex-Group
14 strains	Fortuitum-Group
1 strain	<i>M. phlei</i>
1 strain	<i>M. vaccae</i>

26 strains could not be classified. They could be divided into 5 groups.

5. In some herds only one species of mycobacteria each could be isolated from the drinkers. The incidence of atypical species of mycobacteria partly differed geographically.

6. The epidemiologic significance of the results of the tests was discussed.

VI. Literaturverzeichnis

- 1.) Becker, K.: Typendifferenzierungen bei tuberkulösen Schlachtschweinen. Vet.med. Diss. München (1963)
- 2.) Bederke, G.: Die apathogenen Mykobakterien als Störungsquelle der Tuberkulinreaktion. Mhefte Tierhk. 6 (1954), Sondert. Rindertuberk., S. 201
- 3.) Beerwerth, W.: Die Züchtung von Mykobakterien aus dem Kot der Haustiere und ihre Bedeutung für die Epidemiologie und Bekämpfung der Tuberkulose. Prax. Pneumol. 21, 189 (1967)
- 4.) Beerwerth, W. und J. Schürmann: Zur Ökologie der Mykobakterien. Zbl. Bakt. I Orig. 211, 58 (1969)
- 5.) Beitzke, H.: Eine Fehlerquelle bei der Antiforminmethode. Berl. klin. Wschr. 31, 1451 (1910)
- 6.) Bönicke, R.: Die Differenzierung "atypischer" Mykobakterien. Zbl. Bakt. I Orig. 205, 260 (1967)
- 7.) Bönicke, R. und S.E. Juhasz: Beschreibung einer neuen Species Mycobacterium vaccae n.sp. Zbl. Bakt. I Orig. 192, 133 (1964)
- 8.) dieselben: Mycobacterium diernhoferi n. sp., eine in der Umgebung des Rindes häufig vorkommende neue Mycobacterium-Species. Zbl. Bakt. I Orig. 197, 292 (1965)
- 9.) Bönicke, R. und B.P. Lisboa: Über das Vorkommen von Acylamidasen in Mykobakterien
I. Mitteilung: Die enzymatische Desamidierung aromatischer und aliphatischer Carbonsäuren. Zbl. Bakt. I Orig. 175, 403 (1959)
IV. Mitteilung: Die Differenzierung schnellwachsender Mykobakterien der Species M. smegmatis, M. phlei, M. fortuitum und M. thamnophaeos durch Nachweis ihrer unterschiedlichen acylamidatischen Stoffwechselleistung. Zbl. Bakt. I Orig. 179, 209 (1960)
V. Mitteilung: Die Identifizierung von "atypischen Mykobakterien" der photochromogenen Gruppe mit Hilfe der Amidreihe. Zbl. Bakt. I Orig. 179, 223 (1960)
- 10.) Brandes, H.: Tuberkuloseähnliche Veränderungen in den Mesenteriallymphknoten des Schweines (Vorläufige Mitteilung). Arch. Lebensmittelhyg. 11, 193 (1960)
- 11.) Brauer, A.: Untersuchungen über das Vorkommen von Mykobakterien in der Milch von Kühen aus Beständen mit zweifelhaften Tuberkulinreaktionen nach Bekämpfung der Rindertuberkulose. Vet.med. Diss. München (1968)

- 12.) Brem, W.V.: Investigation of blood for tubercle bacilli - Contamination of distilled water with acid-fast organisms a source of error. J. Amer. Med. Assoc. 53, 909 (1909)
- 13.) Brühn, A.: Differenzierung aus dem Rinderkot isolierter Mykobakterien. Vet.med. Diss. Berlin FU (1966)
- 14.) Buhler, V.C. und A. Pollak: Human infection with atypical acidfast organisms. (A report of two cases with pathological findings). Amer. J. Clin. Path. 23, 363 (1953)
- 15.) Chapman, J.S.: The ecology of the atypical mycobacteria. Arch. Environm. Hlth. 22, 41 (1971)
- 16.) Chapman, J.S., J.S. Bernard und M. Speight: Isolation of mycobacteria from raw milk. Amer. Rev. Resp. Dis. 91, 351 (1965), zit. nach Kellmann (31)
- 17.) Deinse, F. van: Production tardive de "tuberculin" dans une culture de saprophytes acido-resistants. Ref.: Zbl. Bakt. I Ref. 139, 213 (1941)
- 18.) Diernhofer, K.: Versuche über die praktische Verwendbarkeit der Simultanprobe mit verschiedenen Tuberkulinen in der Bekämpfung der Rindertuberkulose. Wien. tierärztl. Mschr. 50, 18 (1963)
- 19.) Eichbaum, F.: Die säurefesten Wasserleitungs- und Trompetenbazillen. Zbl. Bakt. I Orig. 127, 65 (1933)
- 20.) El-Ahwal, A.M.A.: Kreuzreaktionen bei mit verschiedenen atypischen Mykobakterien infizierten Meerschweinchen. Vet.med. Diss. Berlin FU (1964)
- 21.) Freerksen, E. und D. Lauterbach: Über die Auslösbarkeit von Tuberkulinreaktionen nach Verfütterung atypischer Mykobakterienstämme beim Rinde. Zbl. Bakt. I Orig. 180, 217 (1960)
- 22.) Froman, S.: zit. nach Chapman (15)
- 23.) Götze, U.: Das fleischhygienische Problem der Tuberkulose des Schweines mit besonderer Berücksichtigung des Vorkommens von Mykobakterien im Fleisch der an "isolierter" Lymphknotentuberkulose erkrankten Schweine. Berl.Münch. tierärztl. Wschr. 80, 47 (1967)
- 24.) Gordon, R.E. und J.M. Mihm: A Comparison of four species of Mycobacteria. Journ. Gen. Microbiol. 21, 736 (1959)
- 25.) Gordon, R.E. und M.M. Smith: Rapidly growing, acid-fast bacteria. II. Species' description of Mycobacterium fortuitum CRUZ. J. Bacteriol. 69, 502 (1955)
- 26.) Grossklaus, D.: Untersuchungen zur Klärung der fleischhygienischen Bedeutung der Mesenteriallymphknotentuberkulose des Schweines. Schlacht-Viehhof-Ztg. 65, 363 (1965)

- 27.) Haag, F.E.: Die saprophytischen Mykobakterien. Zbl. Bakt. II Orig. 71, 1 (1927)
- 28.) Hartwigk, H. und D. Stottmeier: Über die Variabilität von Mykobakterien. Zbl. Bakt. I Orig. 189, 430 (1963)
- 29.) Heeschen, W. und K.E. Krüger: Zur Frage der Anwendung einer Tuberkulindiagnostik in der Differentialdiagnose "unspezifischer" Tuberkulinreaktionen. Mhefte Tierhk. 15 (1963), Sondert. Rindertuberk., S. 64
- 30.) Hellmann, E.: Beitrag zum Mykobakteriennachweis aus Tuberkulose-verdächtigen Lymphknotenveränderungen von Schwein und Rind. Berl.Münch. tierärztl. Wschr. 79, 285 (1966)
- 31.) derselbe: Die Bedeutung der aviären und sogenannten atypischen Mykobakterien in der Veterinärmedizin unter besonderer Berücksichtigung lebensmittelhygienischer Aspekte. Vortrag auf dem 2. Symposium über Lebensmittelmikrobiologie der Dtsch. Vet.med. Ges. am 21./22.5.1970, Berlin (Masch-Schr.)
- 32.) derselbe: Persönl. Mitteilung (1970)
- 33.) Huempfer, H.R., H.S. Fulner und K.W. Deuschle: Patterns of mycobacterial isolations from a tuberculosis hospital population in Kentucky. Amer. Rev. Resp. Dis. 97, 263 (1968)
- 34.) Hummel, P.: Über das Vorkommen von atypischen Mykobakterien bei Hund und Katze. Zbl. Vet. med. B 13, 51 (1966)
- 35.) Jensen, K.A., J. Kiaer und L. Lundberg: Studies of the antigenic structure of mycobacteria. Acta path. microbiol. Scand. 66, 79 (1966) u. 67, 111, 488 (1967)
- 36.) Jones, R.J., D.E. Jenkins und K.H.K. Hsu: Raw milk as a source of mycobacteria. Canad. J. Microbiol. 12, 979 (1966), zit nach Hellmann (31)
- 37.) Juhasz, S.E. und R. Bönicke: Säurebildung aus Kohlenhydraten, ausgetestet in der "bunten Reihe". Beitr. Klin. Tbk. 130, 155 (1965)
- 38.) Juhlin, I.: Contribution to the classification of mycobacteria and nocardias. Acta path. microbiol. Scand. Suppl. 189 (1967)
- 39.) Käppler, W.: Atypische Mykobakterien im Untersuchungsmaterial von Menschen. Zschr. Tuberk. 127, 71 (1967)
- 40.) Kauker, E. und K. Zettl: Beitrag zur käsigen Lymphknotenentzündung der Schweine. Berl.Münch. tierärztl. Wschr. 77, 167, 173 (1964)

- 41.) Kazda, J.: Mykobakterien im Trinkwasser als Ursache der Parallergie gegenüber Tuberkulinen bei Tieren.
a) I. Mitteilung: Parallergische Reaktionen bei Geflügel. Zbl. Bakt. I Orig. 203, 92 (1967)
b) II. Mitteilung: Parallergische Reaktionen gegenüber Säuger- und Geflügeltuberkulin bei Rindern. Zbl. Bakt. I Orig. 203, 190 (1967)
- 42.) derselbe: Die Bedeutung der atypischen Mykobakterien in der Veterinärmedizin. Wien. tierärztl. Mschr. 56, 424 (1969)
- 43.) Kestle, D.G., V.D. Abbott und G.P. Kubica: Differential identification of mycobacteria. II. Subgroups of Groups II and III (Runyon) with different clinical significance. Amer. Rev. Resp. Dis. 95, 1041 (1967)
- 44.) Koedel, H.: Untersuchungen über das Verhalten von nicht humanen Mykobakterien bei unterschiedlichen Vorbehandlungsmethoden. Zschr. Tuberk. 127, 81 (1967)
- 45.) Krenn, E.: Zur Ätiologie einer käsigen Lymphknotenentzündung beim Schwein. Wien. tierärztl. Mschr. 41, 436 (1954)
- 46.) Kubica, G.P., R.E. Beam und J.W. Palmer: A method for the isolation of unclassified acid-fast bacilli from soil and water. Amer. Rev. Resp. Dis. 88, 718 (1963)
- 47.) Lange, B.: Über einige den Tuberkelbazillen verwandte säurefesteste Saprophyten. Dtsch. med. Wschr. 46, 763 (1920)
- 48.) Mai, W. und W. Richter: Untersuchungen über Anzahl und Ursache parallergischer Tuberkulinreaktionen bei Rindern. Mhefte Vet. med. 27, 46 (1972)
- 49.) Meissner, G.: Atypische Mykobakterien. III. Mitteilung. Aviäre und aviumähnliche Stämme. Zbl. Bakt. I Orig. 180, 510 (1960)
- 50.) dieselbe: Bakteriologische und biochemische Differenzierung von atypischen Mykobakterien. Vortrag auf dem 2. Symposium über Lebensmittelmikrobiologie der Dtsch. Vet. med. Ges. am 21./22.5.1970, Berlin (Masch.-Schr.)
- 51.) Meissner, G. und A. Schmiedel: Mykobakterien und mykobakterielle Krankheiten.
a) Bd. 4, Teil IV: Laboratoriumsdiagnose der Mykobakterien. Jena: Fischer 1968 (Infektionskrankheiten und ihre Erreger 4, IV)
b) Bd. 4, Teil VII: Bovine Tuberkulose, aviäre Tuberkulose und andere Mykobakteriosen. Jena: Fischer 1970 (Infektionskrankheiten und ihre Erreger 4, VII)
- 52.) Merten, R.: Die säurefestesten, tuberkelbazillenähnlichen Bazillen in Blasinstrumenten. Zbl. Bakt. I Orig. 128, 488 (1933)

- 53.) Moeller, A.: Ein neuer säure- und alkoholfester Bacillus aus der Tuberkelbacillengruppe, welcher echte Verzweigungsformen bildet. Zbl. Bakt. 25, 369 (1899)
- 54.) Moll, G.: Allergische und bakteriologische Untersuchungen über das Vorkommen von M. avium in gesunden Schlachtrindern. Vet.med. Diss. München (1965)
- 55.) Müller, H.: Kann die Tuberkulinempfindlichkeit auch durch apathogene Mykobakterien erzeugt werden? Vet.med. Diss. Gießen (1954)
- 56.) Nassal, J.: Experimentelle Untersuchungen über die Isolierung, Differenzierung und Variabilität der Tuberkulosebakterien. Parey, Berlin u. Hamburg 1961 (Zentralbl. f. Veterinärmed., Beih. 2)
- 57.) derselbe: Diskussionsbeitrag am 2. Symposium über Lebensmittelmikrobiologie der Dtsch. Vet.med. Ges. am 21./22.5.1970, Berlin (Masch.Schr.)
- 58.) Nyiredy, J., L. Héjj und S. Tuboly: Die Rolle der saprophytischen Mykobakterien bei der Auslösung der Tuberkulinempfindlichkeit der Rinder. Zbl. Bakt. I Orig. 206, 395 (1968)
- 59.) Olt, A.: Diskussionsbeitrag auf der Versammlung des Hamburg-Altonaer Tierärztlichen Vereins am 4.12.1897. Ref.: Dtsch. tierärztl. Wschr. 5, 463 (1897)
- 60.) Petri: Zum Nachweis der Tuberkelbazillen in Butter und Milch. Arb.Gesd.amt 14, 1 (1898)
- 61.) Popp, K.D.: Zur epizootischen Bedeutung der Sägemehleinstreu für das Auftreten der Schweinetuberkulose. Vet. med. Diss Berlin FU (1971)
- 62.) Rabinowitsch, L.: Zur Frage des Vorkommens von Tuberkelbacillen in der Markenbutter. Dtsch. med. Wschr. 32, (1897). Ref.: Zbl. Bakt. 22, 352 (1897)
- 63.) Reinhold, L.: Über die Häufigkeit atypischer Mykobakterien in Untersuchungsproben von Patienten mit Tuberkulose oder Tuberkuloseverdacht im Gebiet Halle/S. Zschr. Tbk. 127, 65 (1967)
- 64.) Schaefer, W.B.: Incidence of the serotypes of Mycobacterium avium and atypical mycobacteria in human and animal diseases. Amer. Rev. Resp. Dis. 97, 18 (1968)
- 65.) Schern, K. und H. Dold: Beiträge zur Frage der Schnell-diagnose der Tuberkelbazillen nebst Untersuchungen über säurefeste Stäbchen im Wasser. Arb.Gesd.amt 38, 209 (1912)
- 66.) Schliesser, Th.: Weitere Typendifferenzierungen bei der isolierten Lymphknotentuberkulose des Schweines. Arch. Lebensmittelhyg. 15, 250 (1964)

- 67.) derselbe: Infektionen bei Tieren mit "atypischen" Mykobakterien der Gruppen I, II und IV nach Runyon. Prax. Pneumol. 19, 544 (1965)
- 68.) derselbe: Die epidemiologische Situation bei der Tuberkulose der Tiere nach der Tilgung der Rindertuberkulose. Zbl. Bakt. I Orig. 205, 300 (1967)
- 69.) derselbe: Atypische Mykobakterien und unspezifische Tuberkulinreaktion. Schweiz. Arch. Tierhk. 111, 328 (1969)
- 70.) Schröder, K.H., K. Pfirrmann und K. Hoff: Differenzierung langsamwachsender skotochromogener Mykobakterien. Zbl. Bakt. I Orig. 216, 228 (1971)
- 71.) Schürmann, J.: Untersuchungen über das Vorkommen des *M. avium* und anderer Mykobakterien im Kot von Hühnern. Vet.med. Diss. Berlin FU (1967)
- 72.) Schuhwerk, G.: Untersuchungen über die Tuberkulinempfindlichkeit von Kälbern nach Infektion mit sogenannten "atypischen" Mykobakterien. Vet.med. Diss. München (1962)
- 73.) Seeger, J.: Die Bedeutung der atypischen skotochromogenen Mykobakterien für die Gesundheit von Tier und Mensch. Berl.Münch. tierärztl. Wschr. 81, 407 (1968)
- 74.) Seeger, J. und G. Schack-Steffenhagen: Ursache und Bedeutung der Schweinetuberkulose für die Gesundheit von Mensch und Tier. Berl.Münch. tierärztl. Wschr. 80, 226 (1967)
- 75.) dieselben: Untersuchungen über das Vorkommen von Geflügeltuberkelbakterien in großen Hühnerbeständen. Berl.Münch. tierärztl. Wschr. 81, 269 (1968)
- 76.) Seelemann, M. und H.-G. Rackow: Zur Allergie bei Infektionen mit verschiedenen Mykobakterien. Mhefte Tierhk. 7 (1955), Sondert. Rindertuberk., S. 153
- 77.) Siam, M.A.: Differenzierung von sogenannten atypischen Mykobakterien menschlicher und tierischer Herkunft. Vet. med. Diss. Gießen (1965). Ref.: Landw. Zbl. 12, S. 1616 (1967)
- 78.) Singer, E. und G.M.J. Rodda: Unspezifische Sensibilisierung gegenüber Alttuberkulin: Mykobakterien im Wasser. Tubercle 46, 209 (1965)
- 79.) Stöckl, W. und H. Mathois: Über die Antigenstruktur der Mykobakterien. Wien. tierärztl. Mschr. 51, 151 (1964)
- 80.) Stoll, L. und M.A. Siam: Zur bakteriologischen Differentialdiagnostik der isolierten Lymphknotentuberkulose des Schweines unter Berücksichtigung des Vorkommens atypischer Mykobakterien. Dtsch. tierärztl. Wschr. 75, 395 (1968)

- 81.) Stuart, P. und P. Harvey: Bovine mastitis resembling tuberculosis caused by *Mycobacterium lacticola* and other rapidly growing acid-fast bacteria. Vet. Rec. 63, 88 (1951)
- 82.) Thieringer, H.: Über den Nachweis von Tuberkelbazillen im Kote von Rindern. Arb.Gesd.amt 43, 545 (1913)
- 83.) Tuboly, S.: Studies on the antigenic structure of mycobacteria. Acta microbiol. Acad. scient. Hung. 12, 233 (1965), 14, 317 (1967), zit. nach Mai und Richter (48)
- 84.) Unertl, B.: Untersuchungen über das Vorkommen von Mykobakterien in Rohmilch. Vet.med. Diss. München (1969)
- 85.) Uraba, K.: Biological studies of acid-fast bacteria. Isolation of and some biological natures of saprophytic acid-fast bacteria. Ref.: Zbl. Bakt. I Ref. 120, 514 (1936)
- 86.) Westphal, W., H. Dickel und H. Prange: Untersuchungen von Schweinelymphknoten mit tuberkuloseverdächtigen Veränderungen. Arch. Lebensmittelhyg. 12, 25 (1961)
- 87.) Wolinsky, E. und T.K. Ryneearson: Mycobacteria in soil and their relation to disease-associated strains. Amer. Rev. Resp. Dis. 97, 1032 (1968)

Am Schlusse meiner Arbeit möchte ich Herrn
Professor Dr. E. Hellmann für die freund-
liche Überlassung des Themas und für seine
Unterstützung danken.

L e b e n s l a u f

- 26.4.1941 geboren in Hof/Sudetenland als Sohn
des Landwirts Johann Gerle und seiner
Ehefrau Olga, geb. Appel
Vater 1942 gefallen
- 1948 - 1958 Besuch zunächst der Volks- und dann der
Mittelschule in Frankenberg (Hessen)
- 1958 - 1960 Praktikant in verschiedenen Handwerks-
und Industriebetrieben
- 1960 - 1963 Besuch des Oskar-v.-Miller Polytechnikums
in München, Abteilung Heizungs-, Klima-
und Gastechnik
Ingenieurprüfung im Juni 1963
- WS 1963 u.
SS 1964 Studium der Veterinärmedizin mit Kleiner
Matrikel an der Freien Universität Berlin
- Sommer 1964-65 Berufstätigkeit als Ingenieur in Stuttgart
- Sommer 1965-67 Schüler am Berlin-Kolleg in Berlin/
Schöneberg
Reifeprüfung im September 1967
- WS 1967 bis
WS 1970 Fortsetzung des veterinärmedizinischen
Studiums an der Freien Universität Berlin
- SS 1968 tierärztliche Vorprüfung
- November 1971 letzter Abschnitt des tierärztlichen
Staatsexamens
20. Dez. 1971 Bestallung als Tierarzt
- Seit Sept. 1966 verheiratet, zwei Kinder
- Seit WS 1969 als Volontär am Landesveterinäruntersuchungs-
amt Berlin mit den Untersuchungen zur vor-
liegenden Arbeit beschäftigt

